



BACILLUS THURINGIENSIS E MELIA AZEDARACH

Aplicações e interações no controle de insetos-praga

Fotografias e ilustrações cedidas pelos autores

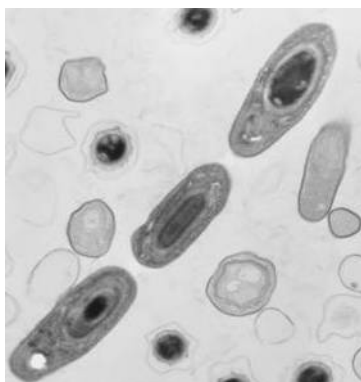


Figura 1a: *Bacillus thuringiensis*



Figura 1b: *Melia azedarach*

Diouneia Lisiane Bertlitz

Estudante de Mestrado do PPG-Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre e Laboratório de Microbiologia. Universidade do Vale do Rio dos Sinos - São Leopoldo - RS.

Lidia Mariana Fiuza

Profª Adjunta do PPG-Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre, Coordenadora do Laboratório de Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS. Pesquisadora Consultora da Fitotecnia, EEA/Instituto Rio-Grandense do Arroz, Cachoeirinha, RS.
fiuza@unisinos.br

O controle biológico de insetos-praga é alvo de inúmeras pesquisas face aos riscos da utilização contínua de inseticidas sintéticos que podem ocasionar a resistência das pragas ou a ocorrência de pragas secundárias. Essa estratégia de controle utiliza parasitóides, predadores, microrganismos e plantas para impedir que as pragas atinjam níveis populacionais elevados, que causam danos econômicos, além de substituir agroquímicos ou minimizar seu uso nas lavouras. No caso de microrganismos, o entomopatógeno *Bacillus thuringiensis* pode ser utilizado individualmente ou associado a outros agentes de controle no Manejo Integrado de Pragas. O uso de plantas inseticidas também representam agentes promissores no controle de insetos, onde vêm sendo utilizadas *Melia azedarach* e *Azadirachta indica*, ambas da família Meliaceae. Sendo assim, nesse trabalho são apresentados dados sobre o uso de *B. thuringiensis* e *M. azedarach* no controle de pragas, enfatizando a importância da interação de inseticidas microbianos e botânicos.

Introdução

A agricultura, desde os primeiros tempos, desenvolve técnicas para adequar as culturas aos fatores bióticos e abióticos e ao ataque de pragas de modo a suprir a demanda de alimentos, assim como as exportações de grãos e seus subprodutos. Para que isso seja possível, o uso de complementos minerais e orgânicos como também defensivos torna-se importante, porém os agroquímicos utilizados sem orientação técnica resultam em danos ao meio ambiente, cujos resíduos permanecem no solo e na água, além de serem prejudiciais aos seus manipuladores (Taubert et al., 2002).

Com o avanço tecnológico, os agricultores vêm conhecendo as diferentes técnicas para o controle de insetos prejudiciais às culturas, podendo então optar pelo uso da chamada agricultura alternativa, na qual se enquadra a agricultura

orgânica, sem o uso de inseticidas, fertilizantes ou aditivos químicos. Esse sistema de cultivo baseia-se no controle mecânico de plantas daninhas, na rotação de culturas, na manutenção de resíduos culturais, na adubação orgânica e no uso de rochas minerais para a manutenção das qualidades físicas do solo (Gallo et al., 2002).

Dessa maneira, o setor agrícola que sempre se preocupou com uma melhor produção visando minimizar os custos ao agricultor e os impactos ao ambiente vêm desenvolvendo métodos de controle de insetos-praga. Dentre esses, o principal é o controle químico, que traz grandes impactos por ser um método pouco seletivo às pragas, atingindo também seus inimigos naturais, além de deixar resíduos tóxicos no ambiente.

Com isso, tornou-se importante o uso de estratégias de controle menos agressivas uma vez que inseticidas químicos podem ocasionar resistência de pragas, assim como a ocorrência de pragas secundárias ou ressurgência de outras pragas (Kogan, 1998). Dentre essas estratégias, o controle biológico apresenta-se através do uso de parasitóides, predadores, microrganismos e, recentemente as plantas inseticidas, que estão substituindo ou minimizando o uso dos agroquímicos nas lavouras.

No controle biológico, o uso de microrganismos como o entomopatógeno *Bacillus thuringiensis* (Berliner 1911, 1915) vem sendo utilizado separadamente ou associado a outras formas de controle no Manejo Integrado de Pragas. O uso de plantas inseticidas está sendo alvo de muitos estudos de toxicidade a insetos, onde se destacam o nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e o cinamomo (*Melia azedarach* L., 1753) que pertencem a família Meliaceae.

Levando em consideração tais fatores, nesse trabalho são apresentados estudos sobre a interação de inseticidas microbianos e botânicos, porém, enfatiza o uso de *B. thuringiensis* e *M. azedarach* no controle biológico de pragas.

Tabela 1. Classes e sub-classes de proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* com atividade inseticida às principais ordens de insetos.

Classes e Sub-classes	Atividade inseticida
Cry 1A, Cry 1B, Cry 1C, Cry 1D, Cry 1E, Cry 1F, Cry 1G, Cry 1H, Cry 1I, Cry 1J, Cry 1K, Cry 2A, Cry 9A, Cry 9C, Cry 15 A.	Lepidoptera
Cry 1I, Cry 3A, Cry 3B, Cry 3C, Cry 7A, Cry 8A, Cry 8B, Cry 8C, Cry 14A, Cry 18A, Cry 18B, Cry 18C, Cry 34B, Cry 35A, Cry 36A, Cry 38A.	Coleoptera
Cry 1A, Cry 2A, Cry 4B, Cry 10A, Cry 11A, Cry 11B, Cry 16A, Cry 17A, Cry 19A, Cry 19B, Cry 20A, Cry 39A, Cry 40A	Diptera
Cry 5A, Cry 5B, Cry 22A.	Hymenoptera

*Adaptado de Pinto & Fiuza (2002).

Bacillus thuringiensis

No gênero *Bacillus*, *B. thuringiensis* é considerada a espécie de maior interesse, pois é um entomopatógeno de várias ordens de insetos-praga da agricultura como Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera (Tabela 1), além de dípteros vetores de doenças humanas como os mosquitos do gênero *Culex*, *Aedes* e *Simulium* (Maagd et al., 2003; Cavados et al., 2001).

Essa bactéria é encontrada naturalmente no solo além de outros substratos como superfícies ou endofíticos de plantas, produtos armazenados e insetos (Azevedo et al., 2000). Sua característica marcante, além de ser um entomopatógeno esporulante, é a produção de corpos de inclusão parasporais, denominados cristais. Esses cristais são formados por diferentes proteínas Cry, por sua vez sintetizadas pelos genes *cry* presentes nos isolados, os quais determinam o espectro inseticida dos mesmos (Höfte & Whithely, 1989; Crickmore et al., 1998; Schenpf et al., 1998).

O modo de ação desse microrganismo está relacionado à solubilização das proteínas Cry no intestino dos insetos suscetíveis. Esse processo resulta na liberação de fragmentos tóxicos que se ligam a receptores específicos na membrana do epitélio intestinal levando a formação de poros e ao desequilíbrio osmótico da célula (Aroson & Shai, 2001; Bravo et al., 2002; Fiuza, 2004). Em decorrência desse efeito o inseto inibe sua alimentação e, conseqüentemente, morre. Na Tabela 2 estão apresentadas as principais espécies de insetos suscetíveis às diferentes subespécies de *B. thuringiensis*.

Segundo Shelton et al. (2002) os primeiros produtos inseticidas contendo subespécies de *B. thuringiensis* foram

comercializados na França em 1930. Em 1995 mais de 180 produtos à base dessa bactéria foram registrados pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) nos Estados Unidos da América do Norte. No trabalho de Capalbo et al. (2005) foram mencionados 15 formulados de *B. thuringiensis* registrados no Brasil até o ano de 2003.

Melia azedarach

As espécies da família *Meliaceae* são muito estudadas, pois contêm um grande número de compostos repelentes e inseticidas, apresentando um potencial de controle por sua elevada eficiência e baixa toxicidade. Porém, o emprego de inseticidas botânicos depende da identificação dos compostos ativos, seu modo de ação, produção, formulação, estabilidade, doses, ação sobre inimigos naturais, persistência em campo, testes de toxicidade para registros, entre outros (Martinez, 2003).

Dentre as espécies dessa família, *M. azedarach* destaca-se a semelhança de *A. indica* que produz a azadiractina com eficiência para mais de 400 espécies de insetos (Martinez, 2003) cujo ingrediente ativo já constitui um produto comercial denominado Neemix 4,5®.

O cinamomo provoca diferentes reações nos insetos, agindo como inibidor da alimentação, retardo de crescimento, redutor da fecundidade, causador de alterações morfogênicas e comportamentais (Breuer et al., 2003). Esses efeitos estão relacionados aos limnóides produzidos por essa planta (Tabela 3).

Em relação à toxicidade de *M. azedarach*, a Tabela 4 apresenta diferentes espécies de invertibrados nos quais foram detectados efeitos dos extratos das diferentes estruturas de *M. azedarach*.

O interesse por obter produtos agrícolas em sistemas sustentáveis estimula o estudo e o uso de estratégias do Manejo Integrado de Pragas (MIP) e do Manejo Ecológico de Pragas (MEP). Sendo assim, os extratos vegetais apropriadamente selecionados e em concentrações adequadas podem ser usados em associação com entomopatógenos obtendo-se efeitos aditivos ou sinérgicos no controle (Saito & Luchini, 1998).

Segundo os autores, o efeito estressor desses extratos sobre a praga pode determinar uma ação mais rápida do entomopatógeno e/ou um maior índice de mortalidade. Assim essa associação pode ser positiva ou benéfica quando o inseto-alvo tem mecanismos comportamentais de defesa contra entomopatógenos, quando as condições ambientais não são favoráveis ou as quantidades de inóculo necessárias são elevadas.

Nesse trabalho, a busca de dados bibliográficos não revelou resultados de interação específica de *B. thuringiensis* e *M. azedarach*. Porém, Sabbour (2003) realizou ensaios com extrato e óleo volátil de *Taxodium distichum* (L. Rich) e *Boswellia carterii*, em combinação com a bactéria *B. thuringiensis* e o fungo *Beauveria bassiana* (Vuillemin, 1912) em pragas de produtos armazenados. Em seus resultados a combinação de *T. distichum* com *B. thuringiensis* causou um aumento na patogenicidade aos insetos, reduzindo, respectivamente, 71 e 74% os valores da concentração letal média, quando usado o extrato e o óleo volátil.

A pesquisa de Marquez et al. (2003) mostrou que o extrato com éter das folhas do cinamomo possui forte atividade antimicrobiana contra *B. cereus*. No entanto, esse resultado deve ser avaliado em relação a *B. thuringiensis* para determinar se há uma inativação dessa espécie de bacilos com o extrato da planta.

Em relação a outros microrganismos, os fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Paecilomyces farinosus* (Hom ex SF Gray) Brown & Smith, tiveram o crescimento, a esporulação e a viabilidade avaliados frente ao óleo de nim (Marques, et al., 2004). Segundo esses autores, os resultados mostram que o óleo de nim afeta o crescimento e a esporulação dos fungos citados, sendo que *M. anisopliae* é menos sensível que os demais microrganismos. Os dados desses autores evidenciam a necessidade de utilizar o extrato do cinamomo para determinar se há uma interação com o entomopatógeno *B. thuringiensis*, seja essa positiva ou

Tabela 2. Subespécies de *Bacillus thuringiensis* com atividade inseticida a diferentes insetos.

Lepidoptera	<i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797)	<i>Bt aizawai</i> , <i>Bt dendrolimus</i> , <i>Bt kurstaki</i> , <i>Bt aizawai</i> , <i>Bt thuringiensis</i> , <i>Bt darmstadiensis</i> , <i>Bt morrisoni</i> , <i>Bt galleriae</i> , <i>Bt entomocidus</i> , <i>Bt tolworthi</i> , <i>Bt ostriniae</i> , <i>Bt nigeriensis</i> , <i>Bt monterrey</i> , <i>Bt ssp</i>	Berlitz e Fiuza (2004) Polanczyk et al. (2000) Polanczyk et al. (2003) Silva et al. (2004)
	<i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner, 1918)	<i>Bt thuringiensis</i> , <i>Bt alesti</i> , <i>Bt fukuokaensis</i> , <i>Bt kurstaki</i> , <i>Bt kurstaki</i> , <i>Bt aizawai</i> , <i>Bt ssp</i>	Bobrowski et al. (2001) Bobrowski et al. (2002) Silva et al. (2004)
	<i>S. exigua</i> (Hübner, 1808)	<i>Bt ssp</i>	Bravo et al. (1998)
	<i>S. frugiperda</i> <i>S. exigua</i> , <i>S. frugiperda</i> <i>S. littoralis</i> (Boisduval, 1828), <i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner, 1808)	<i>Bt ssp</i>	Martínez et al. (2004)
	<i>Trichoplusia ni</i> (Hueb., 1802)	<i>Bt ssp</i>	Bravo et al. (1998)
	<i>S. littoralis</i>	<i>Bt kenya</i>	Ben-Dov et al. (2003)
	<i>Heliothis virescens</i> (Fabr., 1781)	<i>Bt ssp</i>	Bernhard et al. (1997)
	<i>S. littoralis</i> , <i>Agrotis ypsilon</i> (Hufnagel, 1767)		
	<i>Plutella xilostella</i> (L., 1758)	<i>Bt kurstaki</i>	Schuler e Emden (2000)
	<i>Phthorimaea operculella</i> (Zeller, 1873)	<i>Bt kurstaki</i>	Kroschel e Koch (1996)
	<i>Pieris brassicae</i> (Linneé, 1758)	<i>Bt ssp</i>	Bernhard et al. (1997)
	<i>Galleria mellonella</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Bt galleriae</i>	Dubovskii et al. (2005)
Coleoptera	<i>Oryzophagus oryzae</i> (Lima, 1936)	<i>Bt ssp</i>	Pinto e Fiuza (2003)
	<i>Gonipterus scutellatus</i> (Gyllenhal, 1833)	<i>Bt kurstaki</i>	Santolamazza-Carbone e Ana-Magán (2004)
	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Say, 1824)	<i>Bt tenebrionis</i>	Loseva et al. (2002)
	<i>Phaedon cochleariae</i> (Fabricius, 1792)	<i>Bt ssp</i>	Bernhard et al. (1997)
	<i>Tenebrio molitor</i> (L., 1758)	<i>Bt ssp</i>	Silva et al. (2004)
Isoptera	<i>Nasutitermes ehrhardti</i> (Holmgren)	<i>Bt sooncheon</i> , <i>Bt roskildiensis</i> , <i>Bt yunnanensis</i> , <i>Bt buazhongiensis</i> , <i>Bt brasiliensis</i> , <i>Bt colmeri</i> , <i>Bt kurstaki</i> .	Castilhos-Fortes et al. (2002)
Hymenoptera	<i>Acromirmex crassispinus</i> (Forel, 1909)	<i>Bt ssp</i>	Pinto et al. (2003)
	<i>A. lundii</i> (Guérin, 1838)		
Diptera	<i>Culex quinquefasciatus</i> (Say, 1823), <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	<i>Bt ssp</i> <i>Bt ssp</i> <i>Bt ssp</i>	Silva et al. (2004) Cavados et al. (2001) Sun et al. (1996)
	<i>Cx. pipiens</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Bt kyushuensis</i>	Bernhard et al. (1997)
	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> (Liston, 1901)	<i>Bt sotto</i>	Ohgushi et al. (2003)
	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i> (Skuse, 1895), <i>An. darlingi</i> (Root, 1926), <i>An. deaneorum</i> (Rosa-Freitas, 1989), <i>An. aquasalis</i> (Curry, 1932), <i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>Bt israelensis</i>	Rabinovitch et al. (1999)
	<i>Simulium pertinax</i> (Kollar, 1832)	<i>Bt israelensis</i>	Cavados et al. (2004)
	<i>An. stephensi</i> (Liston, 1901) <i>An. fluviatilis</i> (James, 1902), <i>An. culicifacies</i> (Giles, 1901)	<i>Bt israelensis</i>	Amalraj et al. (2000)

Bt ssp = isolados sem identificação das subespécies.

negativa.

No caso do uso interativo dessa bactéria com nematóides entomopatogênicos, Koppenhöfer & Kaya (1997) utilizaram *B. thuringiensis japonensis* e nematóides em larvas de *Cyclocephala birta* (LeConte, 1861) e *C. pasadenae* (Casey, 1915) (Coleoptera: Scarabaeidae) mostrando que essa interação apresentou maior

mortalidade que os tratamentos individuais, otimizando assim o uso integrado desses organismos.

Já os autores Zhang et al. (2000) utilizaram *B. thuringiensis kurstaki* em diferentes concentrações e suplementado com tripsina de soja mostrando uma inibição no crescimento larval de *H. armigera* (P<0,05). Em ensaios *in vitro* e *in*

vivo, os autores comentam que a degradação das protoxinas e toxinas de *B. thuringiensis* pode ser inibida pela tripsina da soja. Os dados sugerem que o tempo de retenção das toxinas no intestino médio das larvas foi estendido, ocorrendo também um sinergismo entre os cristais inseticidas da bactéria e os inibidores de tripsina da soja.

Tabela 3. Principais compostos sintetizados por plantas de *Melia azedarach*.

Compostos	Plantas (estrutura)	Referências
12-hydroxyamorastatina	Fruto	Carpinella et al. (2003)
Meliatenina		
1,3-Dicinnamoyl-11-hydroxymeliacarpina	Folhas	Bohnenstengel et al. (1999)
1-Cinnamoyl-3-methacrylyl-11-hydroxymeliacarpina		
1-Cinnamoyl-3-acetil-11-hydroxymeliacarpina		
Salannal, Meliacarpina E, Salannina, Deacetylsalannina, Nimbolina, Nimbolidina.	Raíz	Huang et al. (1996)

B. thuringiensis também pode ser utilizado em combinação com outros microrganismos. Nesse sentido, os resultados de Wraight & Ramos (2005) demonstram sinergismo de 35,2; 33,8; e 21,1% quando utilizado simultaneamente um produto comercial a base de *B. thuringiensis* e do fungo *B. bassiana* em *Leptinotarsa decemlineata*. Esses autores revelam que a interação pode ter sido ocasionada pela intoxicação causada pelo entomopatógeno, inibindo a alimentação do inseto, ocasionando uma situação de stress, e efeitos fisiológicos, o que facilitou a penetração do fungo no inseto. Também foram encontrados efeitos sinérgicos quando usada a combinação de *B. thuringiensis kurstaki* com destruxinas do fungo *M. anisopliae* para combater larvas de *Choristoneura fumiferana* (Clemens,

1865) (Lepidoptera: Tortricidae) (Brousseau et al., 1998).

Outra forma de controle integrado foi avaliada por Petry et al. (2004) utilizando *B. thuringiensis* e controle mecânico de espécies de *Simulium*, revelando 88,83% de índice reducional médio de larvas. Já Andrade & Modolo (1991) testaram *B. thuringiensis israelensis* em mistura com o pesticida temephos contra *A. aegypti* causando 91 e 98% de mortalidade corrigida, diminuindo o tempo letal médio.

Além disso, a revisão de Hoffmann-Campo et al. (2003) aponta diferentes estratégias utilizadas nos programas de MIP implementados nas culturas de trigo, cana-de-açúcar, tomate e soja assim como em grãos armazenados. Dentre essas estratégias incluindo o uso moderado de pesticidas, pode-se mencionar as

práticas culturais (destruição de resíduos, fertilização e rotação de culturas), o uso de métodos de controle biológico através de *B. thuringiensis* e de feromônios sexuais de insetos.

Interações tri-tróficas

O crescimento populacional tem refletido no setor agrícola a preocupação em aumentar a produção de alimentos. Com isso, os pesquisadores estão aprofundando seus estudos no controle biológico, uma vez que os insetos são causadores de perdas mundiais entre 10 e 20% da produção agrícola (Ferry et al., 2004). Sendo assim, pesquisas recentes na área biotecnológica, estudam diferentes formas de induzir a resistência de uma planta a seu predador, porém, as técni-

Tabela 4. Extratos de *Melia azedarach* com ação tóxica às diferentes ordens de invertebrados.

Ordens	Espécies	Extratos	Referências
Homoptera	<i>Bemisia tabaci</i> (Genn., 1889)	Fruto	Souza e Vendramim (2000) Nardo et al. (1997)
Acari	<i>Mononychellus tanajoa</i> (Bondar, 1938)	Fruto maduro	Gonçalves et al. (2001)
Diptera	<i>Liriomyza huidobrensis</i> (Blanchard, 1926)	Fruto	Banchio et al. (2003)
	<i>Anastrepha fraterculus</i> (Wied., 1830)	Fruto	Salles e Rech (1999)
Coleoptera	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say, 1831)	Frutos	Mazzonetto e Vendramin (2003)
	<i>Diabrotica speciosa</i> (Germ., 1824)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Chrysodina</i> sp.	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Epitrix argentiniensis</i>	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Tribolium confusum</i> (Du Val, 1868)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Eumolpinae</i> sp.	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Xanthogalleruca luteola</i> (Müller,)	Fruto	Carpinella et al. (2003) Valladares et al. (1997)
	<i>Epilachna paenulata</i> (Germar, 1824)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Sitophylus oryzae</i> (L., 1763)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Sitophilus zeamais</i> (Mots., 1865)	Folha	Procópio et al. (2003)
	<i>Pantomorus leucoloma</i> (Boheman, 1840)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Anthonomus grandis</i> (Boh., 1843)	Fruto	Fernandes et al. (1996)
Lepidoptera	<i>Tuta absoluta</i> (Meirich, 1917)	Folha, ramos e fruto	Brunherotto e Vendramim (2001)
	<i>Phthorimaea operculella</i> (Zeller, 1873)	Fruto fresco	Kroschel e Koch (1995)
	<i>A. gemmatalis</i>	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Earias vittella</i> (Fabricius, 1794)	Semente	Gajmer et al. (2002)
	<i>Rachiplusia nu</i> (Guen., 1852)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>Spilosoma virginica</i> (Fabricius, 1798)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
	<i>S. frugiperda</i>	Fruto verde	Breuer et al. (2003)
		Fruto	Carpinella et al. (2003)
		Folha e caule	Hernández e Vendramim (1997)
	<i>S. littoralis</i>	Melacarpina	Bohnenstengel et al. (1999)
	<i>S. eridania</i> (Stool, 1782)	Melacarpina E	Huang et al. (1996)
	<i>Colias lesbias</i> (Hueb., 1823)	Fruto	Carpinella et al. (2003)
Hemiptera	<i>Triatoma infestans</i> (Klug, 1834)	Folha e fruto	Valladares et al. (1999)

cas convencionais de controle químico ainda são utilizadas, sendo que o controle biológico encontra algumas resistências, principalmente devido aos custos ao produtor.

Os agroecossistemas constituem um complexo de interações tróficas, por isso o interesse em interações tri-tróficas visando a utilização de patógenos, parasitóides e predadores, juntamente com a planta hospedeira/inseticida (Figura 2). De acordo com Agrawal (2000), as plantas podem ser atrativas ou benéficas a alguns inimigos naturais de herbívoros,

Considerações

Atualmente, a engenharia genética utiliza os genes *cry* de *B. thuringiensis* na obtenção de plantas geneticamente modificadas. Porém, a introdução desses genes nas plantas as tornam inseticidas específicas, ou seja, a defesa ocorre somente àquelas ordens de insetos suscetíveis às proteínas Cry codificadas pelos genes utilizados na transformação. Como exemplo podem ser citados os genes *cry* 1Ac, *cry* 2Ab e *cry* 9C, conferindo resistência às culturas do milho e algodão contra o

implica no conhecimento das espécies-pragas e seus níveis de danos econômicos às plantas cultivadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, A.A. 2000. Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. **Current Opinion in Plant Biology** 3: 329-335.
- Amalraj, D.D.; Sahu, S.S.; Jambulingam, P.; Doss, P.S.B.; Kalyanasundaram, M.; Das, P.K. 2000. Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac) against mosquito vectors. **Acta Tropica** 75: 243-246.
- Andrade, C.F.S.; Modolo, M. 1991. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* in integrated control. **Revista Saúde Pública** 25(3): 184-187.
- Arosón, A. I. & Shai, Y. 2001. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. **FEMS Microbiology Letters** 195: 1-8.
- Azevedo, J.L.; Maccheroni Jr., W.; Pereira, J.O.; Araújo, W.L. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology** 3(1): 40-65.
- Banchio, E.; Valladares, G.; Defagó, M.; Palacios, S.; Carpinella, C. 2003. Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer *Liriomyza buidobrensis* (Diptera: Agromyzidae): assessment in laboratory and field experiments. **Annals of Applied Biology** 143: 187-193.
- Ben-Dov, E.; Saxena, D.; Wang, Q.; Manasherob, R.; Boussiba, S.; Zaritsky, A. 2003. Ingested particles reduce susceptibility of insect larvae to *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Applied Entomology** 127: 146-152.
- Berlitz, D.L. & Fiuza, L.M. 2004. Avaliação toxicológica de *Bacillus thuringiensis aizawai* para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), em laboratório. **Biociências** 12(2): 115-119.
- Bernhard, K.; Jarret, P.; Meadows, M.; Butt, J.; Ellis, D.J.; Roberts, G.M.; Pauli, S.; Rodgers, P.; Burges, H.D. 1997. Natural isolates of *Bacillus thuringiensis* worldwide distribution, characterization, and activity against insect pests. **Journal of Invertebrate Pathology** 70: 50-68.
- Bobrowski, V.L.; Pasquali, G.; Bodanese-Zanettini, M.H.; Pinto, L.M.N.; Fiuza,

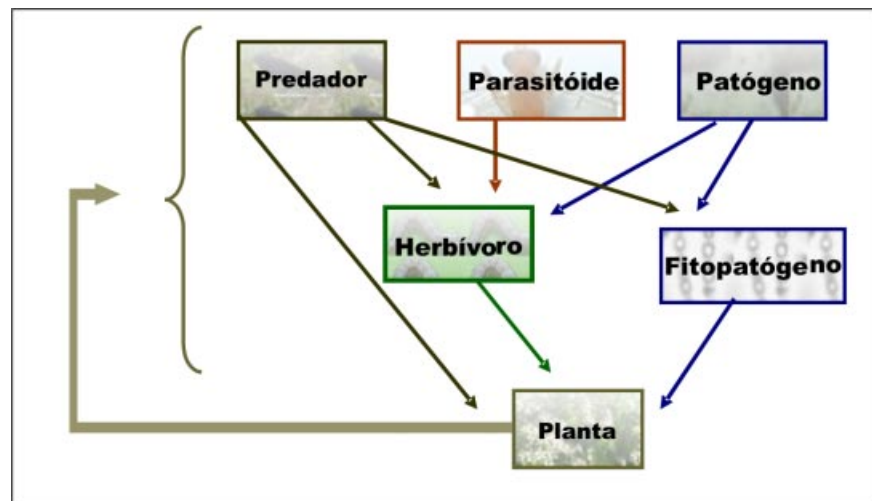


Figura 2. Interações tri-tróficas entre os organismos. (adaptado de Agrawal, 2000)

mas também podem ser tóxicas ou prejudiciais a esses. Assim, as interações tri-tróficas podem identificar esses mecanismos de modo a poder manipulá-los, o que irá otimizar o controle e reduzir o uso de inseticidas.

Os autores Ferry et al. (2004) identificam diferentes estratégias de defesa das plantas a seus predadores. Dentre essas, pode-se citar mecanismos de defesa endógenos e moleculares, sinalização das plantas e a produção de substâncias voláteis. Em resposta, os insetos também desenvolveram estratégias de defesa a esses compostos, principalmente através da produção de proteinases e de mecanismos especiais de desintoxicação utilizando, por exemplo, citocromo P450, monooxigenases e glutathione S-transferases.

Entretanto, a complexidade química das plantas pode manipular seus fenótipos, conseqüentemente de seus inimigos naturais (Wittstock e Gerhenson, 2002) demonstrando assim a importância de pesquisas utilizando níveis tri-tróficos de interação entre plantas e agentes de controle biológico.

ataque de lepidópteros (O'Callaghan et al., 2005).

De acordo com Shelton et al. (2002), as plantas de algodão, milho e batata transgênicas têm obtido sucesso em relação ao controle de pragas. Juntamente com essas plantas pode-se avaliar o espectro inseticida de outros agentes de controle biológico, como as plantas inseticidas. Cabe salientar também, a importância do controle químico como um agente complementar. Nesse sentido, os dados de Pray (2001) revelam uma redução média de 123.000 toneladas de inseticidas químicos entre os anos de 1999 e 2001, quando cultivado o algodão geneticamente modificado com genes de *B. thuringiensis*.

Sendo assim, a interação de métodos de controle de pragas pode ser utilizada junto aos programas de manejo integrado como uma alternativa viável e segura aos ecossistemas e ao homem. Para tanto, recomenda-se a utilização de métodos de controle que representam um baixo impacto ao ambiente e uma melhor relação custo-benefício ao produtor. A implementação dessas estratégias também

- L.M. 2002. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* isolates from south of Brazil and their toxicity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control** 25:129-135.
- Bobrowski, V.L.; Pasquali, G.; Bodanese-Zanettini, M.H.; Pinto, L.M.N.; Fiuza, L.M. 2001. Detection of cry1 genes in *Bacillus thuringiensis* isolates from south of Brazil and activity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera:Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology** 32: 105-109.
- Bohnenstengel, F.I.; Wray, V.; Witte, L.; Srivastava, R.P.; Proksch, P. 1999. Insecticidal meliacarpins (C-seco limnoids) from *Melia azedarach*. **Phytochemistry** 50: 977-982.
- Bravo, A.; Miranda, R.; Gómez, I.; Sobero, M. 2002. Pore formation activity of Cry 1Ab toxin from *Bacillus thuringiensis* in an improved membrane vesicle preparation from *Manduca sexta* midgut cell microvilli. **Biochemistry et Biophysical Acta** 1562: 63-69.
- Bravo, A.; Sarabia, S.; Lopez, L.; Ontiveros, H.; Abarca, C.; Ortiz, A.; Ortiz, M.; Lina, L.; Villalobos, F.J.; Peña, G.; Nuñez-Valdez, M.; Soberón, M.; Quintero, R. 1998. Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied of Environmental Microbiology** 64: 4965-4972.
- Breuer, M.; Hoste, B.; De Loof, A.; Naqvi, S.N.H. 2003. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 76: 99-103.
- Brousseau, C.; Charpentier, G.; Bellocik, S. 1998. Effects of *Bacillus thuringiensis* and destruxins (*Metarhizium anisopliae* micotoxins) combinations on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Invertebrate Pathology** 72: 262-268.
- Brunherotto, R. & Vendramin, J.D. 2001. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology** 30: 455-459.
- Capalbo, D.M.F.; Vilas-Bôas, G.T.; Suzuki, M.T. 2005. *Bacillus thuringiensis*. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento 34: 78-85.
- Carpinella, M.C.; Defago, M.T.; Valladares, G.; Palacios, S.M. 2003. Antifeedant and insecticide properties of a limnoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51: 369-374.
- Castilhos-Fortes, R.; Matsumura, A.T.S.; Diehl, E.; Fiuza, L.M. 2002. Susceptibility of *Nasutitermes ebrhardtii* (Isoptera: Termitidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies. **Brazilian Journal of Microbiology** 33: 219-222.
- Cavados, C.F.G., Majerowicz, S.; Chaves, J.Q.; Araújo-Coutinho, C.J.P.C Rabinovitch, L. 2004. Histopathological and ultrastructural effects of δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* in the midgut of *Simulium peritax* larvae (Diptera, Simuliidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 99(5): 493-498.
- Cavados, C.F.G., Fonseca, R.N.; Chaves, J.Q.; Rabinovitch, L.; Araújo-Coutinho, C.J.P.C. 2001. Identification of Entomopathogenic *Bacillus* Isolated from *Simulium* (Diptera, Simuliidae) Larvae and Adults. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 96(7): 1017-1021.
- Crickmore, N.; Zeigler, D.R.; Fietelson, J.; Schnepf, E.; Van Rie, J.; Lerecus, D.; Baum, J.; Dean, D.H. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal protein. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 62(3): 807-813.
- Dubovskii, I.M.; Olifirenko, O.A.; Glupov, V.V. 2005. Level and activities antioxidants in intestine of larvae *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) at peroral infestation by bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae*. **Journal Evolution Biochemistry and Physiology** 41(1): 20-25.
- Fernandes, W.D.; Ferraz, J.M. G.; Ferracini, V.L.; Habib, M.E.M. 1996. Deterência alimentar e toxicidez de extratos vegetais em adultos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 25: 553-556.
- Ferry, N.; Edwards, M.G.; Gatehouse, J.A.; Gatehouse, A.M.R. 2004. Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. **Current Opinions in Biotechnology** 15: 155-161.
- Fiuza, L.M. 2004. Receptores de *Bacillus thuringiensis* em insetos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento** 32: 84-89.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramin, J.D.; Mrchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. 2002. Métodos de Controle de Pragas, p.243-359. In: D. Gallo et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ. 920p.
- Gajmer, T.; Singh, R.; Saini, R.K.; Kalidhar, S.B. 2002. Effect of methanolic extracts of neem (*Azadiracta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach* L) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab.) (Lep. Noctuidae). **Journal of Applied Entomology** 126: 238-243.
- Gonçalves, M.E.C.; Oliveira, J.V.; Barros, R.; Torres, J.B. 2001. Efeito de extratos vegetais sobre estágios imaturos e fêmeas adultas de *Mononychellus tamajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology** 30(2): 305-309.
- Hernandez, C.R. & Vendramin, J.D. 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda*. **Revista Agrícola** 72: 305-318.
- Hoffmann-Campo, C.B.; Oliveira, L.J.; Moscardi, F.; Gazzoni, D.L.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Lorini, I.A.; Borges, M.; Panizzi, A.R.; Sosa-Gomez, D.R.; Corso, I.C. 2003. Integrated pest management in Brazil, p. 285-299. In: K.M. Maredia, D. Dakouo, D. Mota-Sanchez (eds.). **Integrated Pest Management in the Global Arena**. CAB International, 560p.
- Höfte, H. & Whiteley, H. R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiology Reviews** 53: 242-255.
- Huang, R.C.; Tadera, K.; Yagi, F.; Minami, Y.; Okamura, H.; Iwagawa, T.; Nakatani, M. 1996. Limnoids from *Melia azedarach*. **Phytochemistry** 43(3): 581-583.
- Kogan, M. Integrated pest management historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review Entomology** 43: 243-270.
- Koppenhofer, A.M. & Kaya, H.K. 1997. Additive and synergistic interaction between entomopathogenic nematodes and *Bacillus thuringiensis* for scarab grub control. **Biological Control** 8: 131-137.
- Kroschel, J. & Koch, W. 1996. Studies on the use of chemicals, botanicals and *Bacillus thuringiensis* in the management of the potato tuber moth in potato stores. **Crop Protection** 15(2): 197-203.
- Loseva, O.; Ibrahim, M.; Candás, M.; Koller, C.N.; Bauer, L.S.; Bulla Jr, L.A. 2002. Changes in proteases activity and Cry 3Aa toxin binding in the Colorado potato beetle: implications for insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 32: 567-577.
- Maagd, R.A.; Bravo, A.; Berry, C.; Crickmore, N.; Schnepf, H.E. 2003. Structure, diversity and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. **Annual Review Genetics** 37: 409-433.

- Marques, R. P.; Monteiro, A. C.; Pereira, G. T. 2004. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural** 34(6): 1675-1680.
- Marquez, B.P.; Cardenas, A.O.; Morales, C.R.; Star, M.J. 2003. Identificación de compuestos de *Melia azedarach*, *Syzgium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* com efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos. **Ciencia Uanl** 3: 333-338.
- Martínez, C.; Porcar, M.; López, A.; Escudero, I.R.; Pérez-Liarena, F.J.; Caballero, P. 2004. Characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain with a broad spectrum of activity against lepidopteran insects. **Entomologia experimentalis et Applicata** 111: 71-77.
- Martinez, S.S. 2003. **O nim - Azadirachta indica natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 142p.
- Mazzonetto, F. & Vendramim, J.D. 2003. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. **Neotropical Entomology** 32(1): 145-149.
- Nardo, E.A.B.; Costa, A. S.; Lourenção A. L. 1997. *Melia azedarach* extract as an antifeedant to *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Florida Entomologist** 80(1): 92-94.
- O'Callaghan, M.O.; Glare, T.R.; Burgess, E.O.J.; Malone, L.A. 2005. Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. **Annual Review of Entomology** 50: 271-292.
- Ohgushi, A.; Wasano, N.; Shisa, N.; Saitoh, H.; Mizuki, E.; Maeda, M.; Ohba, M. 2003. Characterization of a mosquitoicidal *Bacillus thuringiensis* serovar sotto strain isolated from Okinawa, Japan. **Journal of Applied Microbiology** 95: 982-989.
- Petry, F.; Lozovei, A.L.; Ferraz, M.E.; Neto, L.G.S. 2004. Controle integrado de espécies de *Simulium* (Diptera: Simuliidae) por *Bacillus thuringiensis* e manejos mecânicos no riacho e nos vertedouros de tanques de piscicultura, Almirante Tamandaré, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia** 48(1): 127-132.
- Pinto, L.M.N. & Fiuza, L.M. 2003. PCR and bioassays screening of *Bacillus thuringiensis* isolates from rice-fields of Rio Grande do Sul, specific to lepidopterans and coleopterans. **Brazilian Journal of Microbiology** 34: 305-310.
- Pinto, L.M.N. & Fiuza, L.M. 2002. Genes *cry* de *Bacillus thuringiensis*: uma alternativa biotecnológica aplicada ao manejo de insetos. **Biociências** 10(2): 3-13.
- Pinto, L.M.N.; Azambuja, A.O.; Dihel, E.; Fiuza, L.M. 2003. Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* isolates from two species of *Acromirmex* (Hymenoptera: Formicidae). **Brazilian Journal Biology** 63(2): 301-306.
- Polanczyk, R.A.; Silva, R.F.P.; Fiuza, L.M. 2003. Screening of *Bacillus thuringiensis* isolates pathogenic to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico** 70(1): 69-72.
- Polanczyk, R.A.; Silva, R.F.P.; Fiuza, L.M. 2000. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal Microbiology** 31: 165-167.
- Pray, C.E.; Huang, J.; Ma, D.; Qiao, F. 2001. Impact of Bt cotton in China. **World Development** 29: 813-825.
- Procópio, S.O.; Vendramim, J.D.; Ribeiro Jr, J.I.; Santos, J.B. 2003. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciências Agrotécnicas** 27(6): 1231-1236.
- Rabinovitch, L.; Cavados, C.F.G.; Chaves, J.Q.; Coutinho, C.J.P.C.A.; Zahner, V.; Silva, K.R.A.; Seldin, L. 1999. A New Strain of *Bacillus thuringiensis* Serovar israelensis Very Active against Blackfly Larvae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 94(5): 683-685.
- Sabbour, M.M. 2003. Combined effects of some microbial control agents mixed with botanical extracts on some stored product insects. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 6(1): 51-56.
- Saito, M.L. & Lucchini, F. 1998. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA. 46p.
- Salles, L.A. & Rech, N.L. 1999. Efeito de extratos de nim (*Azadirachta indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência** 5(3): 225-227.
- Santolamazza-Carbone, S. & Ana-Magán, F.J.F. 2004. Testing of selected insecticides to assess the viability of the integrated pest management on the *Eucalyptus* snout-beetle *Gonipterus scutellatus* in north-west Spain. **JEN** 128: 620-627.
- Schnepf, E.; Crickmore, N.; Vanrie, J.; Baum, J.; Feitelson, J.; Zeigler, D.R.; Dean, D.H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticide crystal proteins. **Microbiology Molecular Biology Reviews** 62: 775-806.
- Schuler, T.H.; Emden, F. 2000. Resistant cabbage cultivars change the susceptibility of *Plutella xylostella* to *Bacillus thuringiensis*. **Agricultural and Forest Entomology** 2: 33-38.
- Shelton, A.M.; Zhao, J.Z.; Roush, R.T. 2002. Economic, ecological, food safety and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. **Annual Review Entomology** 47: 845-881.
- Silva, S.M.B.; Silva-Werneck, J.O.; Falcão, R.; Gomes, A.C.; Fragoso, R.R.; Quezado, M.T.; Neto, O.B.O.; Aguiar, J.B.; de Sá, M.F.G.; Bravo, A.; Monnerat, R.G. 2004. Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. **Journal of Applied Entomology** 128: 102-107.
- Souza, A.P.; Vendramim, J.D. 2000. Atividade ovicida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B em tomateiro. **Scientia Agrícola** 57: 403-406.
- Sun, M.; Luo, X.; Dai, J.; Qu, K.; Lui, Z.; Chen, Y.; Yu, Z. 1996. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* strains from Chinese soils toxic to mosquito larvae. **Journal of Invertebrate Pathology** 68: 74-77.
- Taube, J.; Vorkamp, K.; Förster, M.; Herrmann, R. 2002. Pesticide residues in biological waste. **Chemosphere** 49: 1357-1365.
- Valladares, G.; Defago, M.T.; Palacios, S.; Carpinella, M.C. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Crysomelidae). **Journal of Economic Entomology** 90: 747-750.
- Valladares, C.; Ferreyra, D.; Defago, M.T.; Carpinella, M.C.; Palacios, S. 1999. Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. **Fitoterapia** 70: 421-424.
- Wright, S.P.; Ramos, M.E. 2005. Synergistic interaction between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* tenebrionis based biopesticides applied against field populations of Colorado potato beetle larvae. **Journal of Invertebrate Pathology** 90: 139-150.
- Wittstock, U.; Gershenzon, J. 2002. Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. **Current Opinion in Plant Biology** 5: 1-7.
- Zhang, J.; Wang, C.; Qin, J. 2000. The interactions between soybean trypsin inhibitor and δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera* larva. **Journal of Invertebrate Pathology** 75: 259-266.

