

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**LUIZ FLÁVIO VIANNA SILVEIRA**

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER  
PARA *Tetranychus urticae* KOCH**

**ALEGRE, ES  
2008**

LUIZ FLÁVIO VIANNA SILVEIRA

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER  
PARA *Tetranychus urticae* KOCH**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk

Co-orientador(es): Prof. Dr. Dirceu Pratisoli

Dr. Cláudio Roberto Franco

**ALEGRE, ES  
DEZEMBRO – 2008**

**LUIZ FLÁVIO VIANNA SILVEIRA**

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER  
PARA *Tetranychus urticae* KOCH**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada: 18 de Dezembro de 2008.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientador

---

Prof. Dr. Dirceu Pratissoli  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Co-orientador

---

Dr. Cláudio Roberto Franco  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Co-orientador

---

Prof. Dr. Anderson Mathias Holtz  
Escola Agrotécnica Federal de Colatina

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Norma Rody Vianna e Luiz Eugênio Recepti Silveira

À minha filha Ana Luiza Azevedo Silveira, minha vida

À minha esposa Silmara A. Andrade Azevedo Silveira

Às minhas irmãs: Sâny Silveira Massini, Laís S. Recepti e Estefany S. Recepti

Aos meus sobrinhos Victor Silveira Massini e Lívia Silveira Massini

*“Que assim seja....”*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, em primeiro lugar, por me dar paciência, persistência e força de vontade durante os dois anos de estudo.

Ao Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk pela oportunidade e orientação nos trabalhos.

Ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da UFES.

Ao Prof. Dr. Dirceu Pratissoli e Dr. Cláudio Roberto Franco pela co-orientação e colaboração com valiosos conselhos na condução dos experimentos e na redação da dissertação.

Aos amigos do laboratório de entomologia, em especial, Juliéder Goronci Cocheto, Lauana Pelanda de Souza e Eduardo Domingos Grecco, pela amizade, dedicação e apoio nos experimentos.

Ao Professor Manoel Victor Franco Lemos, do Laboratório de Genética de Bactérias da Universidade Estadual Paulista (Jaboticabal-SP), por ceder os isolados utilizados na pesquisa.

Aos funcionários, pesquisadores e estagiários do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), que de alguma forma colaboraram para a realização dos trabalhos.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Produção Vegetal pelos ensinamentos e conselhos.

Aos amigos do curso de mestrado pelo apoio e companheirismo durante as disciplinas cursadas.

A prima, Renata Vianna Lima pela amizade e ajuda nas disciplinas cursadas.

Ao amigo Francisco Souza de Oliveira (Chiquinho) pelas orações.

Ao meu cunhado Silvagner Andrade Azevedo pela grande ajuda no abstract.

A Prefeitura Municipal de Divino de São Lourenço pela compreensão e liberação de minhas atividades normais para a realização do curso, entendendo a importância para o profissional e para o município.

## **BIOGRAFIA**

Luiz Flávio Vianna Silveira nasceu em Alegre, Espírito Santo, em 23 de Setembro de 1976.

Ingressou no curso de Agronomia pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo em 1995, graduando-se em 2000.

Tornou-se especialista em Piscicultura pela Universidade Federal de Lavras (UFLA/MG) em 2001 e com licenciatura plena em zootecnia pelo CEFET-PR em convênio com a Escola Agrotécnica Federal de Rio Pomba – MG, em 2001.

Lecionou como professor-substituto na Escola Agrotécnica Federal de Alegre – ES, de 2001 a 2003, em olericultura, fruticultura, culturas anuais, cafeicultura e piscicultura.

Em 2006 ingressou na Prefeitura Municipal de Divino de São Lourenço – ES, como engenheiro agrônomo, onde atua atualmente, na assistência técnica aos produtores rurais na área agropecuária.

Em março de 2007 ingressou no curso de Mestrado do Centro de Ciências Agrárias da UFES, defendendo sua dissertação em dezembro de 2008.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	08
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
2.1 CULTURA DO MAMÃO ( <i>Carica papaya</i> L.).....	11
2.1.1 Situação da Cultura no Mundo.....	12
2.1.2 Situação da Cultura no Brasil e no Espírito Santo.....	13
2.1.3 Controle de Pragas na Cultura do Mamão.....	14
2.2 ÁCARO RAJADO <i>Tetranychus urticae</i> Koch, 1836 (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	16
2.2.1 Biologia e Hábitos.....	16
2.2.2 Danos.....	17
2.2.3 Formas de Controle.....	18
2.3 BACTÉRIA ENTOMOPATOGÊNICA <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER (1911).....	21
2.3.1 Histórico e Taxonomia.....	21
2.3.2 Atividade Tóxica.....	22
2.3.3 Uso de <i>B. thuringiensis</i> na Agricultura.....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	28
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	33
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	34

## RESUMO

SILVEIRA, Luiz Flávio Vianna, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, Dezembro de 2008. **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* BERLINER para *Tetranychus urticae* KOCH.** Orientador: Dr. Ricardo Antônio Polanczyk. Co-orientadores: Dr. Dirceu Pratissoli; Dr. Cláudio Roberto Franco.

A cultura do mamão tem grande importância econômica para o Brasil, sendo o maior produtor mundial, com área colhida de 36.650 hectares e 24% da produção mundial, e, para o Espírito Santo, segundo maior produtor, com 39,7% do total nacional, e responsável por 74% na exportação. O ataque de pragas nessa cultura pode reduzir consideravelmente a produção e a qualidade do produto colhido, sendo que, uma das principais pragas é o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (1836). O uso do controle químico de forma descontrolada leva a sérias consequências como a presença de resíduos em frutos acima do permitido e surgimento de populações resistentes. Faz-se necessário o uso de alternativas de manejo do ácaro, como o controle biológico, que vem sendo utilizado como ferramenta no manejo de diversas pragas de importância agrícola no mundo. Por isso, o objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner (1911) (Bt) que sejam patogênicos para o ácaro rajado na cultura do mamão. Foram avaliados 120 isolados de *B. thuringiensis* Berliner (1911) quanto à patogenicidade em *T. urticae* Koch (1836). Cada isolado, contendo  $3 \times 10^8$  esporos viáveis/mL de água destilada autoclavada, constituiu em um tratamento com 8 repetições, em arenas de folhas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformes* com 4,5 cm de diâmetro. Cada repetição continha 10 fêmeas adultas do ácaro e após 5 dias da transferência, a mortalidade foi quantificada e posteriormente corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Os resultados foram submetidos ao teste de Scott – Knott, ao nível de 5%. Os testes em condições de laboratório mostraram que há ação tóxica de *Bacillus thuringiensis* em *Tetranychus urticae*.

**Palavras-chave:** controle biológico. entomopatígeno. bactéria. toxinas Cry.

## ABSTRACT

SILVEIRA, Luiz Flávio Vianna, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, December, 2008. **Screening of *Bacillus thuringiensis* BERLINER against *Tetranychus urticae* KOCH.** Adviser: Dr. Ricardo Antônio Polanczyk. Co-adviseres: Dr. Dirceu Pratissoli; Dr. Cláudio Roberto Franco.

The culture of papaya has great economic importance for Brazil, being the world's largest producer, with a harvested area of 36,650 hectares and 24% of world production, and to the Espírito Santo, the second largest producer, with 39.7% of the national total, and accounts for 74% in export. The attack of pests in this culture can greatly reduce the production and quality of the harvested crop, and, a major pest is the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (1836), which forces producers to use the chemical control of uncontrolled manner, leading to serious consequences as the presence of residues in fruits and emergence of resistant populations. It is necessary the use of alternative management of the mite, such as biological control, which has been used as a tool in the management of various pests of agricultural importance in the world. Therefore, the objective of this study was to select strains of *Bacillus thuringiensis* Berliner (1911) (Bt) pathogenic to the two-spotted spider mite in papaya. It was evaluated 120 isolates of *B. thuringiensis* Berliner (1911) as the pathogenicity of *T. urticae* Koch (1836). Each isolated, containing  $3 \times 10^8$  spores.mL of distilled water autoclaved, was in a treatment, with 8 repetitions, in arenas of leaves of *Canavalia ensiformes* with 4.5 cm in diameter. Each repeat contained 10 adult females of the mite and after 5 days of the transfer, the mortality was quantified and subsequently corrected by the formula of Abbott (1925). The results were submitted to test Scott - Knott, the level of 5%. The tests in laboratory conditions showed that there is toxicant action of *Bacillus thuringiensis* in *Tetranychus urticae*.

**Key words:** biological control. entomopathogen. bacterial. Cry toxins.

## 1 INTRODUÇÃO

O ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (1836) é uma das pragas mais importantes na agricultura, atacando várias espécies de plantas em várias regiões do país, ou seja, é uma espécie cosmopolita e polífaga (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Essa espécie pertence à família Tetranychidae, na qual estão presentes os principais ácaros causadores de danos à agricultura no mundo (CRANHAM; HELLE, 1985).

A cultura do mamão é uma das culturas altamente afetadas pelos danos causados por essa praga. Os danos na cultura do mamão são causados pela fase jovem e também pelos adultos que perfuram as células das folhas mais velhas com seus estiletes, causando amarelecimento e posterior necrose, provocando deformações e queda prematura das folhas e, conseqüentemente, redução do vigor das plantas, além de lesões nos frutos, devido à ação dos raios solares, que acarreta a baixa qualidade para o comércio “*in natura*” (OLIVEIRA, 1988; MARTINS; COSTA, 2003; MORAES; FLECHTMANN, 2008). No Brasil, essa praga ocorre em todas as regiões produtoras de mamão, sendo sua população influenciada pela temperatura e precipitação pluviométrica, sobretudo, em épocas quentes e secas (MARTINS; MARIN, 1998; MARTINS, 2003).

O Brasil é o maior produtor de mamão com participação de 24% da produção mundial e terceiro maior exportador, com 2% do que é produzido no Brasil, sendo enviado principalmente para a Europa e América do Norte, e produziu em 2006 1.897,639 toneladas de frutos, para uma área colhida de 36.650 ha (MARTINS, 2005). Entre os estados brasileiros o Espírito Santo se destaca como o segundo maior produtor de mamão do Brasil participando com 752.503 toneladas (39,7% da produção nacional), numa área colhida de 9.387 hectares, ficando atrás da Bahia, responsável por 48,20%. Esse destaque é ainda maior com relação à exportação, pois o Estado é responsável por 74% do que é enviado principalmente para os Estados Unidos e Europa (IBGE, 2006). Além disso, a cultura torna-se importante no âmbito social, já que, segundo estimativa, emprega direta e indiretamente cerca de 30 mil pessoas desde a produção até a comercialização (PRATES, 2005).

Atualmente, o controle de *T. urticae* é realizado principalmente através do uso do controle químico. Uma das maiores dificuldades em se manejar esta praga é o pequeno número de ingredientes ativos registrados para a cultura, o que propicia

seu uso indiscriminado, podendo levar a vários problemas como contaminação do meio ambiente, dos homens e animais, surgimento de populações resistentes, sendo que este último problema já vem preocupando a comunidade científica desde a década de 70 (SILVA, 1971; WATANABE et al., 1994; SATO et al., 2000; SATO, 2003; SATO et al., 2005; SATO et al., 2007). Outro ponto importante é a ação tóxica desses produtos em inimigos naturais que são altamente suscetíveis (POLETTI et al., 2006).

Apesar deste método de controle também ser considerado parte de um conjunto de estratégias para o manejo de pragas e ser, comprovadamente, eficiente no seu controle, os produtores de mamão devem seguir uma série de normas para reduzir a presença de resíduos de agrotóxicos nos frutos (ALBUQUERQUE et al., 2003). A demanda atual por produtos de alta qualidade nutricional, livre de resíduos de produtos nocivos à saúde e produzidos com respeito ao meio ambiente, pressiona o mercado, os produtores e os pesquisadores a encontrarem formas mais sustentáveis para todo o processo de produção (MARTINS, 2003). Os Estados Unidos são os principais importadores, sendo que, 15,5% do total de mamão exportado pelo Brasil são absorvidos pelo mercado americano que possuem regras rígidas quanto à entrada de frutas em seu território, principalmente com relação a resíduos de agrotóxicos e pragas quarentenárias.

Com isso, novas ferramentas de manejo de pragas devem ser disponibilizadas aos produtores, como, por exemplo, o controle biológico, que tem como base a utilização de inimigos naturais, tais como a liberação de ácaros predadores (COLLIER et al., 2004; COLLIER et al., 2007), assim como de sua conservação, utilizando agrotóxicos seletivos (MONTEIRO, 2001; POLETTI et al., 2008) e patógenos, que apresentam bons resultados em programas de controle biológico. Esses inimigos naturais devem ser capazes de encontrarem condições para se manterem e multiplicarem assim que liberados no campo, além de serem facilmente multiplicados em laboratório (VENZON et al., 2003).

Dentro do grupo dos patógenos podem ser utilizados os fungos, os vírus e as bactérias, todas com eficiência comprovada para o manejo de diversas pragas. Entre as bactérias destaca-se o *Bacillus thuringiensis* Berliner (1911), pertencente à família Bacillaceae, que tem comprovada atividade tóxica em diversas famílias de insetos e ácaros (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

O uso desta bactéria no manejo de pragas vem ganhando espaço de forma contundente na área de controle biológico já que representa 97% do faturamento do mercado com bioinseticidas, porém representa menos de 2% do mercado de agrotóxicos no mundo (DIAS, 1992; TAMEZ-GUERRA et al., 2001; POLANCZYK et al., 2008). Muitos projetos vêm sendo desenvolvidos com base em produtos formulados com esse microorganismo, trazendo resultados positivos para a agricultura, principalmente no manejo de pragas pertencentes às ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (POLANCZYK; ALVES, 2003). Contudo, sua atividade tóxica também pode ser observada contra outros grupos de invertebrados (nematóides, ácaros e protozoários) (EDWARDS et al., 1988; FEILTELSON et al., 1992; CRICKMORE et al., 1995), com grande vantagem por apresentar inocuidade aos mamíferos e vertebrados e ausência de toxicidade às plantas (WHITELEY; SCHNEPF, 1986).

Para propiciar uma alternativa para o manejo de *T. urticae* em mamão, na qual sua ocorrência causa sérios danos à produtividade e qualidade, assim permitindo a produção de alimentos mais saudáveis, esta pesquisa tem como objetivo selecionar isolados de *B. thuringiensis* com potencial para o manejo do ácaro rajado *T. urticae*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CULTURA DO MAMÃO *Carica papaya* L.

A qualidade do produto que chega ao consumidor é fator primordial para o sucesso na produção e comercialização de produtos como frutas, verduras, grãos, etc. Além disso, a origem do produto que chega ao consumidor assume grande importância, pois é cada vez maior a preocupação quanto aos riscos de contaminação do produto, de pessoas e do meio ambiente (MARTINS, 2003).

Nesse contexto, os produtores de frutíferas devem se adaptar, por meio de mudanças conceituais, para que o produto final apresente qualidade, produtividade com baixo impacto ambiental e com responsabilidade social. Para isso, a busca de informações e modelos inovadores de produção, com respeito ao ser humano e ao meio ambiente, torna-se imprescindível para que o produto final ofertado satisfaça às exigências dos consumidores atuais e futuros (MARTINS, 2003).

A cultura do mamão, por exemplo, já foi caracterizada principalmente devido ao uso excessivo de agrotóxicos no controle de pragas. Hoje, sua potencialidade é explorada, em parte, de forma racional, enquadrando a cultura em um sistema integrado de produção, onde todos os fatores, físicos, químicos, biológicos e edafoclimáticos são considerados e estudados até a exaustão, principalmente no que diz respeito à aplicação de agrotóxicos (MARTINS, 2005).

Com isso, a fruta, que apresenta diversas características organolépticas excelentes, como teor de açúcar, baixa acidez, equilíbrio de nutrientes e presença de vitaminas A e C, torna-se muito apreciada e saudável, podendo ser consumida “*in natura*” ou processada (CHEN et al., 1991). Segundo Martins (2005), essa fruta tem alcançado um dos maiores crescimentos de consumo entre as frutíferas mais produzidas no mundo, visto que houve um crescimento na produção mundial, na última década, em torno de 62%.

O mamoeiro cultivado comercialmente pertence à classe Dicotyledoneae, família Caricaceae e gênero *Carica*. A planta é originária da América Tropical e disseminada por todas as regiões do mundo (BADILLO, 1993). No Brasil, por exemplo, é cultivado em todo o território, com destaque para os Estados da Bahia, Espírito Santo e Rio Grande do Norte, sendo que maior parte da produção é

consumida no mercado interno. Destaque é dado para a exportação que apesar de ser ainda pequena, com cerca de 2% do que é produzido no país sendo embarcado nos portos e aeroportos do Brasil, traz um grande retorno econômico, social e ambiental. Porém, já é um avanço e com tendência de crescimento de áreas com o modelo de produção voltado para o Programa de Produção Integrada, trazendo benefícios como a certificação, que atesta a qualidade da fruta brasileira, minimizando o impacto ambiental e a injustiça social (ADRIGUETO; KOSOSKI, 2005).

Torna-se importante que se atinja a qualidade de produção, não só visando a exportação, mas também o mercado interno, que está cada vez mais exigente e criterioso no momento de adquirir qualquer produto, forçando o país a uma excelência em produção (MARTINS; COSTA, 2003).

### **2.1.1 Situação da Cultura no Mundo**

A cultura do mamão é produzida numa faixa do globo terrestre compreendida entre os trópicos de Câncer e Capricórnio, a 21º de latitude Norte e 21º de latitude Sul, sendo que os maiores produtores são pela ordem: o Brasil, responsável por 24,0% da produção mundial. Na segunda posição encontra-se o México (12,6%), no terceiro lugar, Nigéria (11,9%), e na quarta colocação, a Índia (11,1%). Juntos são responsáveis por 59,6% da produção mundial (IBGE, 2006). O país figura como terceiro maior exportador ficando atrás somente do México e Malásia. Jamaica, Costa Rica e Belise também figuram entre os maiores exportadores (MARTINS, 2003).

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization) (2004), a produção mundial do mamão poderá ser de 12 milhões de toneladas em 2010 (BOTEON, 2005).

Os Estados Unidos se destacam entre os maiores importadores por importarem metade do que é comercializado no mundo anualmente. Holanda e Portugal também se destacam no cenário mundial em relação à importação da fruta, seguidos de Hong Kong, Alemanha, Canadá, Japão, Reino Unido, Cingapura e França (ALVES, 2003).

## **2.1.2 Situação da Cultura no Brasil e no Espírito Santo**

O mamão é cultivado em todos os estados brasileiros e no Distrito Federal e possui cerca de 37.060 ha de área cultivada com mamão. Sua produção foi de 1.897.639 toneladas em 2006, considerando os frutos dos grupos “Solo” e “Formosa”, com ligeiro aumento em relação aos anos anteriores com média de produtividade de 51.777 kg/ha. Porém, a série histórica de produção dos últimos 10 anos mostra uma variação em torno desse valor (IBGE, 2006).

Entre os estados produtores, a Bahia é o líder com uma produção em 2006 de 914.679 toneladas, que correspondeu a 48,20% do total nacional. Relativamente à safra 2005, a produção baiana apresentou um crescimento de 25,8%. No segundo posto encontra-se o Espírito Santo, com uma produção de 752.503 toneladas, que equivalem a 39,70% do total nacional, significando um incremento de 19,6% em relação à safra anterior. Esses dois estados concentraram 87,9% da produção nacional de mamão, em 2006. Destaca-se que o rendimento médio da cultura no Espírito Santo é o mais elevado (80.164 kg por hectare), ao passo que, na Bahia, o rendimento na safra 2006 foi de 55.637 kg/ha (IBGE, 2006).

O Espírito Santo possui uma área aproximada de 9.387 hectares com a cultura e gera cerca de 17.500 empregos diretos e 61.250 empregos indiretos (RUGGIERO et al., 2003; IBGE, 2006). É também destaque no cenário nacional como o maior exportador de mamão, sendo responsável por 74% do que é exportado por todo o país (MARTINS; COSTA, 2003). O principal importador são os Estados Unidos, que em 2008 movimentaram 22.353,906 de dólares em 16.838,220 de quilos de mamão no primeiro semestre de 2008 (IBRAF, 2008).

Entre os municípios produtores, destaca-se na liderança o município capixaba de Pinheiros, cuja produção em 2006 somou 438.000 toneladas, correspondendo a 23,1% do total colhido no País em 2006. Em Pinheiros, a área colhida foi de 3.650 hectares, e o rendimento médio de 120.000 kg/ha é o mais elevado do país. Na segunda colocação encontra-se o município baiano de Prado, com 271.584 toneladas colhidas, que equivalem a 14,3% da produção nacional (IBGE, 2006).

Os dez maiores municípios produtores de mamão em 2006 encontram-se numa faixa contínua que se estende do extremo Sul da Bahia ao Norte do Estado do Espírito Santo e são em ordem decrescente: Pinheiros-ES, Prado-BA, Porto Seguro-

BA, Montanha-ES, Teixeira de Freitas-BA, Linhares-ES, Nova Viçosa-BA, Boa Esperança-ES, São Mateus-ES e Mucuri-BA (IBGE, 2006).

### **2.1.3 Controle de Pragas na Cultura do Mamão**

No Brasil o mamão é atacado por diversas pragas, como ácaros e insetos, porém os ácaros constituem a praga mais séria da cultura, pela sua distribuição por todas as regiões produtoras, proliferação rápida e um alto potencial biótico (FLECHTMANN, 1985; MARTINS, 2003).

Dentre eles, destacam-se o ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus* e o ácaro-rajado *T. urticae*, como pragas principais (FLECHTMANN, 1985; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento de ácaros fitófagos é o desequilíbrio nutricional e perturbações fisiológicas provocados principalmente por estresse hídrico e nutricional, ou pela ação de agrotóxicos (MONTEIRO, 1994a). Assim, pulverizações contínuas de agrotóxicos têm levado a baixa eficiência, devido à seleção de populações resistentes (MONTEIRO, 1994a; SATO et al., 2007). Além disso, o uso de produtos de largo espectro provoca mortalidade dos ácaros predadores, o que contribui consideravelmente para o desequilíbrio do agroecossistema (MONTEIRO, 2001b; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Por isso, torna-se importante a utilização racional e conjunta de todas as medidas de controle disponíveis e viáveis, para que se consiga reduzir a utilização de agrotóxicos. No mamão, isso já vem sendo priorizado através da implantação do “*System Approach*” como garantia quarentenária contra a mosca-das-frutas, objetivando atender as exigências dos Estados Unidos, maior importador da fruta.

Esse conceito, relativamente novo, integra várias práticas de pré e pós-colheita que promovem a garantia de que o produto está livre da praga-alvo. No Espírito Santo, a aplicação do *System Approach* permitiu que o mamão começasse a ser exportado a partir de 1998, abrindo fronteiras principalmente para a América do Norte e Europa (MARTINS; MALAVASI, 2003). Vale ressaltar que esse programa está diretamente associado a outros dois programas importantes de manejo de pragas no Brasil, o

Manejo Integrado de Pragas (MIP) e a Produção Integrada de Frutas (PIF), todos com o objetivo principal de melhorar a qualidade do produto final através do emprego de múltiplas táticas de manejo (MALAVASI; MARTINS, 2005).

No caso da PIF, já aplicado no país em diversas frutíferas, os benefícios são evidentes já que um dos objetivos, que é a racionalização no uso de agrotóxicos, foi atingido com êxito. Na cultura do mamão, em pomares conduzidos segundo as normas da PIF, a redução no uso de acaricidas e inseticidas foi de 35,7%, fungicidas de 30% e herbicidas de 78%. Além disso, houve uma redução no custo de produção de mamão em torno de 44% no campo e pós-colheita evidenciando que o emprego de diversos métodos de manejo de forma integrada pode garantir uma produção segura e economicamente viável (ANDRIGUETO; KOSOSKI, 2005).

## 2.2 ÁCARO RAJADO *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)

### 2.2.1 Biologia e Hábitos

O ácaro rajado *T. urticae* pertence à família Tetranychidae que possui um grande número de ácaros estritamente fitófagos. Esses possuem uma característica importante e que afeta diretamente sua proliferação, reprodução e proteção, que é a produção de teia, de forma abundante e próxima às nervuras da face inferior das folhas mais velhas do mamoeiro. No Brasil, essa família compreende muitas espécies de importância econômica, porém *T. urticae* é a única espécie que apresenta um grande número de hospedeiros e causa sérios danos a muitos deles (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

São haplo-diplóides, pois os machos são produzidos por partenogênese arrenótica e as fêmeas através de reprodução sexuada, sendo que, machos e fêmeas passam pelas fases de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto (FLECHTMANN, 1985).

Uma das características mais importantes dessa praga é o grande potencial biótico que apresenta, podendo cada fêmea dar origem a 60 ovos por postura, sendo seu ciclo curto, variando de 5 a 20 dias para os machos e de 5 a 50 dias para as fêmeas, dependendo de fatores climáticos, como temperatura, por exemplo, que à medida que aumenta diminui o ciclo. Assim como a temperatura, a umidade e o estado nutricional da planta hospedeira também podem influenciar na duração do ciclo do ácaro rajado (HELLE; SABELIS, 1985).

No Espírito Santo, sua presença na cultura do mamão está relacionada principalmente a períodos mais quentes e secos, o que ocorre na região Norte do Estado entre os meses de maio a setembro, e também em veranicos que podem ocorrer nos meses de janeiro e fevereiro (SOBRINHO et al., 1998).

O *T. urticae* apresenta grande dimorfismo sexual, onde a fêmea, com 0,5 mm de comprimento, é bem maior que o macho, com 0,25 mm. Apresenta dois pares de manchas escuras no dorso, devido à cor do conteúdo do ventrículo, visível por transparência do tegumento, dando um aspecto rajado, originando seu nome vulgar. Seus ovos, arredondados, são postos próximos às nervuras e entre a considerável quantidade de teias formadas na face inferior das folhas do terço inferior da planta,

onde os danos são provocados (FLECHTMANN, 1985; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

### **2.2.2 Danos**

É uma praga chave na agricultura, principalmente por ser polífaga e cosmopolita, atacando várias espécies de plantas em várias regiões do país e do mundo (FLECHTMANN, 1985), e na cultura do mamão é considerada uma das pragas mais importantes para as condições do Brasil (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Essa praga em todas as suas fases causa danos, principalmente pelo ataque direto em folhas mais velhas do terço inferior das plantas, se localizando na face inferior da mesma, próximo às nervuras, que lhes dá condições propícias para seu desenvolvimento e reprodução. No início, devido à perfuração das células epidérmicas e parenquimatosas pelos estiletes, o conteúdo celular extravasa, em consequência da retração dos estiletes, e esse líquido é então ingerido por sucção (JANSSEN et al., 1998; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Os sintomas aparecem primeiramente como manchas cloróticas ou prateadas que são vistas também na face superior, e, em seguida, essas manchas tornam-se amareladas e, posteriormente, necróticas com rompimento da parede levando à redução da área fotossintética da planta, queda prematura das folhas e maior exposição dos frutos a incidência dos raios solares (OLIVEIRA, 1988; MARTINS; COSTA, 2003).

Com isso, a perda na qualidade e produtividade afeta diretamente a comercialização do mamão, principalmente para aqueles destinados a exportação, sendo necessário controlar ou, ao menos, conviver com essa praga na cultura, mantendo-a abaixo do nível de dano econômico (JANSSEN et al., 1998; COLLIER et al., 2004).

### 2.2.3 Formas de Controle

O controle químico é o método mais utilizado para o controle do ácaro rajado (WATANABE et al., 1994), sendo altamente eficiente quando aplicado de forma correta, podendo ocasionar 100% de mortalidade em adultos e formas jovens, e 100% de inviabilidade nos ovos dessa praga, com aplicação de acaricidas e inseticidas (ALBUQUERQUE et al., 2003; FILHO et al., 2008).

Seu uso de forma inadequada e sem critérios pode levar a um desequilíbrio total do ambiente e da planta. Com isso vários problemas podem surgir em decorrência do uso indiscriminado de agrotóxicos, como por exemplo, altos níveis de resíduos tóxicos nos alimentos e intoxicação de mamíferos, assim como seus efeitos sobre os inimigos naturais e surgimento de populações resistentes, principalmente em ácaros, que, devido a sua biologia, selecionam indivíduos resistentes a aplicações sucessivas de acaricidas (SATO et al., 2000; SATO, 2007).

No sentido de se desenvolver uma agricultura sustentável e proporcionar aos consumidores alimentos saudáveis, produzidos com comprometimento ambiental, é de extrema importância o estudo e a utilização de métodos alternativos ao controle químico tais como o uso de cultivares tolerantes, feromônios, práticas culturais e controle biológico (VIEIRA et al., 2006).

Um grave problema é o surgimento de populações resistentes de *T. urticae* em culturas onde o uso de agrotóxicos é realizado como única forma de controle e em número alto de pulverizações. Sato (2007) registrou a incidência de populações resistentes de *T. urticae* ao princípio ativo clorfenapir, em São Paulo, onde muitos acaricidas contendo esse ingrediente ativo são bastante utilizados em várias culturas para controle dessa praga.

Uma alternativa é o controle biológico, que é amplamente difundido e utilizado em vários países, apesar de ser em menor escala que o químico, e, em *T. urticae* se resume, principalmente, no uso de ácaros predadores e entomopatógenos (WATANABE et al., 1994; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Quanto aos ácaros predadores, vários autores têm relatado ação satisfatória. Um dos exemplos de sucesso na utilização foi constatado na região Sul do país, mais precisamente em Vacaria-RS e Friburgo-SC, onde se utilizava muito o controle

químico para o controle do ácaro vermelho *Panonychus ulmi* e *T. urticae* na cultura da maçã, até o início da década de 90. Com a falta de critérios, monitoramento, falta de rotação de produtos e uso de agroquímicos de largo espectro de ação, nenhum ácaro predador apresentava-se eficiente a ponto de limitar o desenvolvimento tanto de *P. ulmi* quanto de *T. urticae* (MONTEIRO, 2001a, b).

A partir de 1992, com a liberação de um ácaro predador fitoseídeo *Neoseiulus californicus* como alternativa ao controle químico e dentro de um programa integrado de manejo, a população da praga foi suprimida a tal ponto de não serem necessárias intervenções químicas, reduzindo até em 90% o uso de acaricidas nessa cultura (MONTEIRO, 2002).

Collier et al. (2004); Collier et al. (2007), com o objetivo de selecionarem ácaros predadores eficientes no controle de ácaros fitófagos na cultura do mamão, constataram que apenas o ácaro predador *Neoseiulus idaeus* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae) destacou-se por sua abundância e frequência nas diferentes épocas do ano no pomar de Linhares-ES. Sua presença coincidiu principalmente com as flutuações na abundância dos tetraniquídeos, indicando sua utilização como agente de controle biológico altamente promissor principalmente para *T. urticae*.

Quanto ao uso de microorganismos entomopatogênicos, alguns trabalhos são relevantes. São menos utilizados para essa praga quando comparados com produtos químicos e ácaros predadores. Entre estes microorganismos destacam-se os fungos, vírus e bactérias, porém outros grupos podem ser patogênicos ao ácaro (Van DER GEEST, 1985).

Tamai et al. (2002) avaliaram fungos entomopatogênicos visando o controle do ácaro rajado e obtiveram resultados promissores com isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, com mortalidade corrigida acima de 80% e 90%, respectivamente.

A ação de vírus foi relatada pela primeira vez em 1955, por Muma, em populações naturais de *Panonychus citri* (McGregor) na Flórida (Van DER GEEST, 1985).

Quanto ao uso de bactérias, alguns estudos na década de 70 com aplicações de produtos comerciais à base de *B. thuringiensis*, específicos para lepidópteros, evidenciaram diminuição na população de ácaros, porém, outros estudos revelaram incremento na população (KRIEG; LANGENBRUCH, 1981). Contudo, segundo Helle

e Sabelis (1985), o complexo esporo-cristal produzido pela bactéria, apresentando as  $\delta$ -endotoxinas, não possuem efeitos em ácaros, atribuindo à atividade tóxica em ácaros a subprodutos do metabolismo das bactérias e não por suas proteínas.

Em contrapartida outras proteínas produzidas, as  $\beta$ -exotoxinas, possuem claramente uma atividade tóxica em espécies de Tetranychidae (KRIEG, 1968; HALL et al., 1971), porém sua atividade tóxica a mamíferos e outros vertebrados fez com seu uso fosse praticamente suspenso (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

Vargas et al., (2001) confirmaram a toxicidade de  $\beta$ -exotoxina em *T. urticae* e *Panonychus ulmi* (Koch), tanto em fases jovens quanto em adultos, bem como a redução de sua fecundidade, demonstrando toxicidade direta e residual, indicando sua possível utilização em nível de campo.

Porém, Rojas (2006), citada por Polanczyk et al. (2008), obteve excelentes resultados em Cuba, com pulverizações de formulados à base de *B. thuringiensis* (LBT-13) na cultura da batata para o controle do ácaro branco *P. latus* com eficiência superior a 85%. Esse mesmo isolado causou entre 83 e 90% de mortalidade em adultos e 100% em ninfas do ácaro-da-falsa-ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* em citros 72 horas após a aplicação, sendo a ação tóxica desse isolado devida a atividade das  $\delta$ -endotoxinas.

Outra opção que tem se mostrado viável e com grande potencial de controle de *T. urticae* é a utilização de extratos vegetais. Vieira et al. (2006), estudando sete espécies de plantas, obtiveram resultados excelentes em alguns deles. Os extratos aquosos de *Mentha spicata x suaveolens* (hortelã menta) e *Mentha piperita* (hortelã pimenta) proporcionaram mortalidade igual a 90%. Extratos hidroalcoólicos de *Calendula officinalis* (calêndula) bem como extrato aquoso de *Laurus nobilis* (louro) apresentaram mortalidades iguais a 87,5%.

## 2.3 BACTÉRIA ENTOMOPATOGÊNICA *Bacillus thuringiensis*

Em relação às bactérias entomopatogênicas, destaque para as do gênero *Bacillus*, em especial a espécie *B. thuringiensis*.

O *B. thuringiensis* desenvolve-se em condições aeróbicas, em meios artificiais bastante simples. Sob certas restrições, como ausência de nutrientes ou acúmulo de metabólitos indesejáveis, essa bactéria entra em processo de esporulação durante a fase estacionária (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

Existem várias coleções espalhadas pelo mundo e estima-se que 50.000 estirpes são conhecidas. Entre estas, existem algumas que são eficazes contra diversas ordens de insetos (lepidópteros, dípteros e coleópteros) e contra outros grupos de invertebrados (nematóides, ácaros e protozoários) (EDWARDS et al., 1988; FEILTELSON et al., 1992; CRICKMORE et al., 1995).

### 2.3.1 Histórico e Taxonomia

*B. thuringiensis* é uma bactéria gram positiva, da família Bacillaceae que produz no momento de sua esporulação inclusões protéicas cristalinas de diversas formas responsáveis pela atividade tóxica (MONERATT, 2004).

A primeira menção a doenças em insetos causada por esse tipo de bactéria data de 1902, quando Ishiwata no Japão descreveu uma bactéria esporulante responsável pela mortalidade do bicho-da-seda, *Bombix mori* e a chamou de *Bacillus sotto*. Em 1911, Berliner, na Alemanha, redescreveu a mesma bactéria isolada a partir de lagartas da traça da farinha *Anagasta kuhniella* (Lepidoptera: Pyralidae) e, em 1915, a chamou de *B. thuringiensis*, em homenagem à região de onde as lagartas foram coletadas, em Thuringia, na Alemanha (WHITELEY; SCHNEPF, 1986; DIAS, 1992; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

As possibilidades de utilização do *B. thuringiensis* foram logo reconhecidas em controle biológico e a Sporeína, uma formulação à base dessa bactéria, foi produzida na França em 1938. A partir dos anos 1950, diversos países, como a Rússia, a Checoslováquia, a França, a Alemanha e Estados Unidos, começaram a produzir inseticidas biológicos à base dessa bactéria (WEISER, 1986).

### 2.3.2 Atividade Tóxica

No início da esporulação, *B. thuringiensis* sintetiza uma grande quantidade de proteínas com atividade inseticida. As proteínas acumuladas formam um corpo de inclusão cristalina, por isso são denominadas proteínas Cry que são condicionadas por genes *cry* (YAMAMOTO; DEAN, 2000).

Após a ingestão da bactéria pelo inseto, os cristais são solubilizados em pH alcalino, liberando as protoxinas que em presença de enzimas digestivas (proteínases) são convertidas em 4 ou mais polipeptídios tóxicos ( $\delta$ -endotoxinas). Essas toxinas hidrolisadas atravessam a membrana peritrófica e ligam-se a receptores específicos localizados na membrana apical das células colunares do intestino médio, interferindo no gradiente iônico e balanço osmótico da membrana apical formando poros que aumentam a permeabilidade da membrana. O aumento na absorção de água causa lise celular e eventual ruptura e desintegração das células do intestino médio baixando o pH do lúmen, favorecendo a germinação dos esporos que acarretará na septicemia e morte do inseto. A inibição da alimentação pode ocorrer logo após a ingestão do esporo e da toxina da *B. thuringiensis*, provocando a morte do inseto por inanição (COPPING; MENN, 2000; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

Além das toxinas do cristal, essa bactéria pode produzir outras toxinas, como a  $\beta$ -exotoxina, também denominada thuringiensina, que é termoestável, sendo produzida por várias cepas deste patógeno e possui atividade inseticida contra uma ampla gama de insetos. Porém, devido à sua toxicidade para mamíferos e outros vertebrados, a maioria dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis*, utiliza subespécies ou isolados que não produzem a  $\beta$ -exotoxina. Também podem produzir muitas exoenzimas que são patogênicas para insetos. Essas toxinas podem destruir a membrana peritrófica do inseto, danificando o epitélio intestinal. Recentemente, foi descoberta uma nova classe de toxinas, as VIP's ou proteínas vegetativas, com elevada toxicidade para lepidópteros, incluindo *Agrotis ipsilon*, *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera exigua* e *S. frugiperda* (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

As referidas toxinas causam paralisia do intestino e lise das células do epitélio do intestino médio, de modo semelhante às proteínas Cry (YU et al., 1997). De acordo

com Rice (1999), análises do DNA feitas por PCR mostram que o gene que codifica a toxina Vip 3A é encontrado em cerca de 30% dos isolados de *B. thuringiensis*.

Outra teoria que vem sendo debatida há muitos anos é a ação dos esporos na toxicidade a pragas. Segundo Navon (1993), estudando insetos da ordem Lepidoptera, observou que a causa principal da mortalidade era o cristal protéico e que os esporos desempenhavam um papel secundário.

Já Miyasono et al. (1994) constataram um aumento da atividade de uma solução de Bt, contendo proteína purificada, em 146 vezes com a adição de esporos no controle de lagartas de *Plutella xylostella*, evidenciando o sinergismo que ocorreu.

Esta interação positiva pode ocorrer tanto pela ação de alguma toxina do esporo quanto pela multiplicação de células vegetativas e ingestão dos mesmos. Assim, esses esporos podem atuar com a queda do pH no interior do inseto, penetrando na parede do intestino, causando a morte por septicemia (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000).

### **2.3.3 Uso de *B. thuringiensis* na Agricultura**

*B. thuringiensis* pode ser considerado como o agente biológico de maior potencial para o controle de insetos-praga florestais, agrícolas e vetores de doença, graças à especificidade das  $\delta$ -endotoxinas aos artrópodes-pragas, e sua inocuidade aos vertebrados e meio ambiente, inclusive insetos benéficos e inimigos naturais (KRIEG; LANGENBRUCH, 1981; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000; MONNERAT et al., 2000; PRATISSOLI et al., 2006), fazendo desse agente um componente-chave em estratégias de manejo integrado de pragas (BRAVO; QUINTERO, 1993; SCHNEPF et al., 1998). Além disso, pesticidas à base de proteínas Cry têm baixo custo de desenvolvimento e registro, em relação a um novo agrotóxico (SCHNEPF et al., 1998).

Bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* têm sido usados em todo o mundo com sucesso há quase quatro décadas, correspondendo a cerca de 97% dos bioinseticidas comercializados no mundo e apenas 1,5-2,0% do mercado total de inseticidas (DIAS, 1992; TAMEZ-GUERRA et al., 2001; POLANCZYK et al., 2008).

Os produtos contendo toxinas específicas para lepidópteros são, comercialmente, as mais importantes, pois a maioria dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* usados para controlar pragas agrícolas é à base da estirpe HD-1 da subespécie *kurstaki*, a qual tem alta toxicidade e amplo espectro de ação dentro da ordem Lepidoptera (NAVON, 1993). A maior parte do mercado de Bt (60-70%) é dirigida para o controle de pragas florestais (*Lymantria dispar* nos EUA e *Choristoneura* spp. no Canadá), através de pulverizações aéreas, sendo o principal produto usado nessas florestas (NAVON, 1993; Van FRANKENHUYZEN, 1993).

Para o sucesso no uso desse entomopatógeno na agricultura ou no controle de pragas urbanas, se faz necessário o conhecimento detalhado do organismo que estamos lidando. No caso de *B. thuringiensis*, a grande variabilidade genética identificada entre os diferentes isolados leva a utilização de técnicas avançadas, como a PCR (Reação em Cadeia da DNA Polimerase) que evidenciarão a presença dos genes responsáveis pela produção das proteínas específicas, direcionando os trabalhos de bioensaios e possibilitando o seu uso de forma segura e específica, ou seja, em pragas que tais cristais irão ou poderão atuar com comprovada eficiência (BRAVO et al., 1998; CERÓN et al., 1995; VILAS-BÔAS, 2002; LIMA et al., 2002).

Com essa técnica, fragmentos específicos de DNA são amplificados e, posteriormente, verificados quanto à presença ou não do(s) gene(s) em estudo (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000). Essa identificação por PCR prediz parcialmente a atividade tóxica de determinado isolado a praga específica. É um método seguro e rápido e pode substituir bioensaios preliminares para uma coleção de isolados (PORCAR; JUÁREZ-PÉREZ, 2003).

Muitos trabalhos são realizados com esta finalidade evidenciando a importância da técnica (CAROZZI et al., 1991; FATORETTO et al., 2007; GITAHY et al., 2007; MONNERAT, 2004; BRAVO et al., 1998; PORCAR; JUÁREZ-PÉREZ, 2003; ALY, 2007).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), situado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, em Alegre – ES.

#### **Criação de *Tetranychus urticae***

A criação estoque de *T. urticae* foi mantida no Laboratório de Entomologia. Adultos de *T. urticae* foram coletados em campo sob folhas de mamão *Carica papaya* L., no município de Linhares em julho de 2006. No laboratório foram transferidos para folhas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* DC. mantidos em pratos plásticos (20 cm de diâmetro), sob manta acrílica umedecida com água destilada e coberta com papel filtro. Esses pratos contendo os ácaros foram mantidos em câmaras climatizadas reguladas à temperatura  $26 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h. As folhas foram renovadas num intervalo de 5 a 7 dias.

#### **Testes de patogenicidade de *B. thuringiensis* em *T. urticae***

Foram utilizados 120 isolados de *B. thuringiensis* cedidos pelo Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada (LGBBA), junto ao Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal-SP. Os isolados dessa coleção, coletados em solo e provenientes de diferentes locais (Quadro 1), foram estocados em fitas de papel filtro impregnados com uma suspensão de esporos e mantidos em tubos eppendorf no Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI a 4 °C.

Isolados	Locais de coleta	Isolados	Locais de coleta	Isolados	Locais de coleta	Isolados	Locais de coleta
1077 B	Boa Esperança-MG	CST seiva	Sete Lagoas-MG	1043 W	Coqueiral-MG	SP 5	Indefinido
886 F	Indefinido	1043 N-V	Coqueiral-MG	R 112	Itapeva-SP	27.7 L	Indefinido
941 D	Sacramento-MG	CST 23.10	Indefinido	34.7 L	Indefinido	1130 B	Jataí-GO
1024 A	Teixeiras-MG	1048 NM	Coqueiral-MG	977 B	Uberaba-MG	9.7 L	Indefinido
1044 CN-V	Coqueiral-MG	775 G	Gurrolândia-SP	805 B2	Viçosa-MG	928	Ervália-MG
948 G	Ervália-MG	1078	Boa Esperança-MG	SP 16	Indefinido	858 EC	Patos de Minas-MG
1052 B	Coqueiral-MG	1044 CV-N	Coqueiral-MG	MS 2	Indefinido	1010 J	Uberaba-MG
868 G	Pres. Olegário-MG	LMJ4A	Indefinido	969 A	Uberaba-MG	852 F	Viçosa-MG
R 61	Capão Bonito-SP	857 AC2	Lagoa Formosa-MG	Br 42	Minas Gerais	857 CD	Lagoa Formosa-MG
1001	Uberaba-MG	1005	Uberaba-MG	1010 F	Uberaba-MG	888 AD	Ervália-MG
862 C	Patos de Minas-MG	1074 B	Coqueiral-MG	4D4	Indefinido	E 15	Goiânia-GO
1002 B	Sacramento-MG	1039 C	Coqueiral-MG	867 BC	Lagoa Formosa-MG	Br 75	Indefinido
862 DE	Patos de Minas-MG	1075 C	Coqueiral-MG	1038 K	Coqueiral-MG	SER 3	Indefinido
927 R	Viçosa-MG	T14001	Inst. Pasteur-Paris	933 E	Viçosa-MG	1000	Uberaba-MG
872 B	Paranaíba-MG	1030 A	Coqueiral-MG	Br 4 (Br 25)	Pantanal-MT	Br 34	Indefinido
R 89	Capão Bonito-SP	985	Sacramento-MG	878 B	Patos de Minas-MG	S 109	Indefinido
775 C	Gurrolândia-SP	937 H2	Uberaba-MG	83.26A	Jaboticabal-SP	858 AA	Patos de Minas-MG
CUB.4	Indefinido	862 CF2	Patos de Minas-MG	R 5	Campinas-SP	814 B	Ervália-MG
1000 Q	Uberaba-MG	971	Uberaba-MG	R 251	Campinas-SP	1000 A	Uberaba-MG
Br 35	Indefinido	16.7 L	Indefinido	8.7L	Indefinido	RN 1	Parehas-RN
SEIVA1/1002 Y	Sete Lagoas-MG	R 253	Campinas-SP	1012	Uberaba-MG	927 A9.15	Viçosa-MG
S 1328	Indefinido	1075 D	Coqueiral-MG	10.7L	Indefinido	2.18 A	Maceió-AL
E 14	Poço Verde-SE	1075 A	Coqueiral-MG	S 646	Indefinido	R 186	São Paulo-SP
76.25 A	Jaboticabal-SP	810 B	Ervália-MG	S 165	Indefinido	858 H	Patos de Minas-MG
R 239	Campinas-SP	1010i	Uberaba-MG	R 276	Campinas-SP	1077 A	Boa Esperança-MG
PR 13	Indefinido	36.7 L	Indefinido	sps1 (Bti ES)	Indefinido	979 C	Viçosa-MG
816 A	Ervália-MG	R 238	Campinas-SP	S 244	Indefinido	PR 7	Chapecó-PR
1009 K	Uberaba-MG	SP 13	Capivarí-SP	1009 SLR	Uberaba-MG	Br 19	Ribeirão Preto-SP
766 B	Campo Grande-MS	CUB.1	Indefinido	977 FA	Uberaba-MG	1034 F	Sacramento-MG
R 43	Capão Bonito-SP	RS 1	Gramado-RS	100.27 A	Jaboticabal-SP	LMJ 7A	Indefinido

**Quadro 1** - Isolados e local de origem de *B. thuringiensis* utilizados no experimento - (LGBBA) UNESP/Jaboticabal-SP

Para os testes de patogenicidade, foram preparadas suspensões de *B. thuringiensis*, contendo  $3 \times 10^8$  esporos viáveis/mL de água destilada autoclavada. Esses isolados foram multiplicados em meio de cultura BHI (infusão de cérebro e coração) a 30 °C, sob agitação orbital a 180 rpm por 48 horas. Após a lise bacteriana, a mistura contendo esporos, cristais e células vegetativas foram submetidos a três centrifugações consecutivas de 5.000 rotações por minutos (RPM) por 20 minutos, eliminando-se o sobrenadante. Posteriormente a esta etapa, uma alíquota de 1 mL de uma suspensão contendo 10 mL foi diluída 1000 vezes em água destilada autoclavada, e a concentração de esporos foi determinada conforme método descrito em Alves e Moraes (1998).

Discos de folhas de feijão-de-porco de 4,5 cm de diâmetro foram imersas durante 5 segundos nas suspensões previamente preparadas. A testemunha foi imersa em água destilada.

Após a imersão nas suspensões, os discos foram colocados para secar a temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida cada disco foi acondicionado sobre uma pequena placa de isopor fixado no centro de uma placa de gerbox (diâmetro de 6 cm) por um alfinete colado com silicone, deixando-se um disco por placa.

Após essa etapa, foram transferidas 10 fêmeas adultas de *T. urticae* por disco. As avaliações foram feitas cinco dias após a transferência, anotando a mortalidade observada em cada folha, considerando morto todo ácaro que, com o toque de um pincel, apresentava movimento limitado, ou seja, que se locomovia a uma distância inferior ao próprio corpo. Cada gerbox foi considerado uma repetição, sendo o bioensaio constituído de 8 repetições. Os bioensaios foram conduzidos em câmara climatizada a temperatura de  $26 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h.

Os dados foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925), submetidos à análise de variância e as médias submetidas ao teste de Scott – Knott ao nível de 5%.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados apresentados evidenciam que há efeito de *B. thuringiensis* sobre *T. urticae* ( $F = 4,675$ ;  $P < 0,05$ ; g.L. = 847). Entre os isolados testados, 4 (3,33%) apresentaram mortalidade corrigida superior a 40,00%, 23 isolados (19,16%) entre 23 e 40,00% e 93 isolados (77,50%) com mortalidade inferior a 23,00%.

Os resultados evidenciam a grande variabilidade de resultados encontrados em pesquisas envolvendo seleção e ação tóxica de *B. thuringiensis* (Tabela 1). Prova disso é que alguns estudos, utilizando produtos formulados específicos para lepidópteros, evidenciaram alguma diminuição na população de ácaros, porém, outros revelaram incremento na população (KRIEG, 1981).

Polanczyk et al. (2004), estudando a atividade de diversos isolados de *B. thuringiensis* para o controle de *S. frugiperda*, uma das pragas mais importantes da agricultura brasileira, principalmente em algodão, alfafa, amendoim, arroz, aveia, batata, batata-doce, cana-de-açúcar, hortaliças, milho, soja e trigo, observaram mortalidade máxima de 45%. Silva-Werneck et al. (2000), estudando 205 isolados de *B. thuringiensis* apenas um apresentou 100% de mortalidade. Em contrapartida, Faretto et al. (2007), testando 115 isolados na mesma praga, obtiveram 41 isolados com 100% de mortalidade e 16 entre 75 e 90%.

Para *Diatraea saccharalis*, considerada a praga mais severa da cultura da cana-de-açúcar, apenas um entre cinco isolados testados apresentou 100% de mortalidade, o segundo melhor isolado matou 69,10% das lagartas e os outros três isolados apresentaram mortalidade inferior a 3,00% (GITAHY et al., 2007).

**Tabela 1** - Mortalidade corrigida ( $\pm$ EP) de ácaro rajado *Tetranychus urticae* por diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*

Isolados de <i>B. thuringiensis</i>	Mortalidade corrigida $\pm$ EP (%)	Isolados de <i>B. thuringiensis</i>	Mortalidade corrigida $\pm$ EP (%)	Isolados de <i>B. thuringiensis</i>	Mortalidade corrigida $\pm$ EP (%)	Isolados de <i>B. thuringiensis</i>	Mortalidade corrigida $\pm$ EP (%)
1077 B	54,89 $\pm$ 6,73 A	CST seiva	22,68 $\pm$ 4,36 C	1043 W	17,52 $\pm$ 3,37 C	SP 5	14,04 $\pm$ 3,64 C
886 F	54,89 $\pm$ 7,01 A	1043 N-V	22,16 $\pm$ 7,18 C	R 112	17,52 $\pm$ 2,76 C	27.7 L	14,04 $\pm$ 3,64 C
941 D	51,03 $\pm$ 3,23 A	CST 23.10	22,16 $\pm$ 6,63 C	34.7 L	17,52 $\pm$ 3,37 C	1130 B	14,04 $\pm$ 3,64 C
1024 A	45,87 $\pm$ 3,77 A	1048 NM	21,39 $\pm$ 3,34 C	977 B	17,52 $\pm$ 3,37 C	9.7 L	14,04 $\pm$ 3,64 C
1044 CN-V	34,27 $\pm$ 3,87 B	775 G	21,39 $\pm$ 5,49 C	805 B2	16,62 $\pm$ 3,33 C	928	14,04 $\pm$ 6,60 C
948 G	32,98 $\pm$ 5,51 B	1078	21,39 $\pm$ 1,89 C	SP 16	16,62 $\pm$ 3,85 C	858 EC	13,65 $\pm$ 1,89 C
1052 B	31,70 $\pm$ 1,89 B	1044 CV-N	20,87 $\pm$ 6,60 C	MS 2	16,62 $\pm$ 4,32 C	1010 J	13,14 $\pm$ 3,47 C
868 G	31,70 $\pm$ 3,34 B	LMJ4A	20,10 $\pm$ 3,77 C	969 A	16,23 $\pm$ 3,04 C	852 F	13,14 $\pm$ 4,84 C
R 61	30,79 $\pm$ 4,70 B	857 AC2	20,10 $\pm$ 3,77 C	Br 42	15,72 $\pm$ 5,07 C	857 CD	12,75 $\pm$ 3,14 C
1001	30,41 $\pm$ 3,77 B	1005	20,10 $\pm$ 4,25 C	1010 F	15,72 $\pm$ 3,78 C	888 AD	12,75 $\pm$ 3,14 C
862 C	28,22 $\pm$ 9,57 B	1074 B	20,10 $\pm$ 3,77 C	4D4	15,72 $\pm$ 5,07 C	E 15	12,75 $\pm$ 3,14 C
1002 B	27,83 $\pm$ 3,90 B	1039 C	20,10 $\pm$ 3,77 C	867 BC	15,33 $\pm$ 3,52 C	Br 75	12,37 $\pm$ 1,95 C
862 DE	27,83 $\pm$ 5,84 B	1075 C	20,10 $\pm$ 3,23 C	1038 K	15,33 $\pm$ 3,52 C	SER 3	11,85 $\pm$ 3,98 C
927 R	27,83 $\pm$ 2,76 B	T14001	18,81 $\pm$ 4,54 C	933 E	15,33 $\pm$ 4,02 C	1000	11,46 $\pm$ 3,12 C
872 B	27,83 $\pm$ 4,36 B	1030 A	18,81 $\pm$ 3,04 C	Br 4 (Br 25)	15,33 $\pm$ 4,47 C	Br 34	11,46 $\pm$ 2,44 C
R 89	27,83 $\pm$ 3,90 B	985	18,81 $\pm$ 4,10 C	878 B	15,33 $\pm$ 4,47 C	S 109	11,46 $\pm$ 3,12 C
775 C	27,83 $\pm$ 3,90 B	937 H2	18,81 $\pm$ 3,04 C	83.26A	15,33 $\pm$ 3,52 C	858 AA	10,95 $\pm$ 3,75 C
CUB.4	27,83 $\pm$ 1,95 B	862 CF2	18,81 $\pm$ 2,34 C	R 5	15,33 $\pm$ 4,47 C	814 B	10,56 $\pm$ 3,41 C
1000 Q	26,54 $\pm$ 3,04 B	971	18,81 $\pm$ 4,10 C	R 251	15,20 $\pm$ 5,87 C	1000 A	10,18 $\pm$ 3,03 C
Br 35	26,54 $\pm$ 3,04 B	16.7 L	18,81 $\pm$ 3,04 C	8.7L	14,94 $\pm$ 2,58 C	RN 1	9,79 $\pm$ 1,69 C
SEIVA1/1002 Y	26,54 $\pm$ 6,59 B	R 253	18,81 $\pm$ 3,04 C	1012	14,94 $\pm$ 3,23 C	927 A9.15	9,66 $\pm$ 3,65 C
S 1328	25,64 $\pm$ 5,50 B	1075 D	18,81 $\pm$ 2,34 C	10.7L	14,94 $\pm$ 3,23 C	2.18 A	9,66 $\pm$ 4,14 C
E 14	25,25 $\pm$ 5,42 B	1075 A	18,81 $\pm$ 1,29 C	S 646	14,94 $\pm$ 3,23 C	R 186	9,66 $\pm$ 3,65 C
76.25 A	25,25 $\pm$ 3,77 B	810 B	18,29 $\pm$ 5,11 C	S 165	14,94 $\pm$ 3,23 C	858 H	9,27 $\pm$ 2,64 C
R 239	24,35 $\pm$ 4,44 B	1010i	17,91 $\pm$ 3,61 C	R 276	14,81 $\pm$ 4,99 C	1077 A	8,76 $\pm$ 4,31 C
PR 13	23,96 $\pm$ 2,71 B	36.7 L	17,91 $\pm$ 4,54 C	sps1 (Bti ES)	14,43 $\pm$ 3,39 C	979 C	8,37 $\pm$ 3,48 C
816 A	23,96 $\pm$ 2,71 B	R 238	17,52 $\pm$ 3,90 C	S 244	14,43 $\pm$ 3,91 C	PR 7	7,98 $\pm$ 2,36 C
1009 K	22,68 $\pm$ 3,90 C	SP 13	17,52 $\pm$ 3,37 C	1009 SLR	14,43 $\pm$ 3,91 C	Br 19	7,47 $\pm$ 3,63 C
766 B	22,68 $\pm$ 3,37 C	CUB.1	17,52 $\pm$ 4,36 C	977 FA	14,43 $\pm$ 4,78 C	1034 F	7,08 $\pm$ 2,57 C
R 43	22,68 $\pm$ 4,36 C	RS 1	17,52 $\pm$ 2,76 C	100.27 A	14,43 $\pm$ 4,78 C	LMJ 7A	6,70 $\pm$ 1,93 C

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott – knott

Glare e O'callaghan (2000) citam que, em trabalho realizado em laboratório, por Temeyer (1984), algumas espécies de ácaros apresentaram suscetibilidade a *B. thuringiensis* var. *israelensis*, que são eficientes contra dípteros. Porém, neste trabalho, os dois isolados específicos para dípteros deram resultados abaixo de 20% de mortalidade (T14001 com 18,81% e sps1 (Bti ES) com 14,43%).

Segundo Rojas (2006), citada por Polanczyk et al. (2008), apenas uma estirpe de *B. thuringiensis* (LBT-13) é citada como eficiente em três espécies de ácaros em Cuba (*Phyllocoptura oleivora*, *P. latus* e *Tetranychus tumidus*), causando mortalidade que varia de 70 a 100% dependendo da espécie em aplicações do produto formulado com a bactéria em cultivos comerciais.

Essa possibilidade de ampla variação de resultados pode ser devido a vários fatores inerentes a atividade tóxica de *B. thuringiensis*, tais como: estabilidade da protoxina, solubilização dos cristais, processo proteolítico, ausência e alterações dos receptores específicos nas células epiteliais do intestino médio (GARCIA et al., 1982, Van FRANKENHUYZEN, 1993, FIUZA et al., 1996, PEYRONNET et al., 1997), evidenciando a sua complexa ação.

A presença de duas ou mais toxinas é comum em estirpes de *B. thuringiensis* e isso também pode resultar em interação, negativa ou positiva, classificada aqui de acordo com Benz (1971):

1 – Sinergismo independente: é um sistema onde os dois componentes atuam de maneira independente, sem interferência entre eles.

2 – Sinergismo suplementar: é um sistema com dois componentes efetivos que em conjunto produzem um efeito maior que a soma algébrica dos efeitos independentes.

3 – Sinergismo subaditivo: é um sistema onde os dois componentes atuando em conjunto produzem um efeito maior que o sinergismo independente, porém menor que a soma algébrica dos dois efeitos individuais.

4 – Efeito aditivo: é um sistema onde os dois componentes atuando em conjunto produzem um leve incremento no seu efeito, em relação à atuação dos componentes individuais, porém insuficiente para ser considerado sinergismo.

5 – Antagonismo: é um sistema onde a interação dos elementos produz um efeito menor do que suas atuações individuais. Nesse caso, a interação é

considerada negativa, enquanto que nos outros quatro exemplos, acima citados, é considerada positiva.

Para avaliar a interação entre os isolados utilizados nos experimentos, foi realizado um teste onde os quatro isolados mais eficientes (1077 B e 886 F com 54,89%; 941 D com 51,03% e 1024 A com 45,87% de mortalidade corrigida) foram preparados em conjunto em todo o processo de multiplicação, conforme metodologia utilizada nos demais testes. Foi observada mortalidade corrigida de 46,25%, indicando que não há incremento. Porém, o estudo dessas interações tem um elevado grau de complexidade e as respostas sinérgicas são raras, mesmo em laboratório (KOPPENHÖFER; KAYA, 1997). As mesmas dificuldades, até em maior grau, são observadas em campo.

Essa interação pode ocorrer também entre proteínas e esporos, como constatado por Miyasono et al. (1994) que comprovou o aumento da eficiência de uma solução de *B. thuringiensis* com proteínas purificadas após a adição de esporos. A presença de esporos apresenta grande importância na patogenicidade da bactéria, aumentando sua atividade tóxica (COPPING; MENN, 2000). Polanczyk et al. (2003), por exemplo, comentam que a ação de produtos a base de *B. thuringiensis* agem devido a atividade tóxica da proteína e dos esporos, daí os produtos serem formulados sempre com a mistura e não apenas com toxinas.

Uma forma eficiente de evitar o efeito da interação negativa entre toxinas diferentes é a purificação, ou seja, isolamento e produção de solução contendo apenas a toxina específica ao artrópode alvo, eliminando-se assim a influência de outras toxinas como as VIP's e as exotoxinas (POLANCZYK, 2004; ARANDA et al., 1996; BOHOROVA et al., 1997), além de possibilitar a avaliação de sua atividade isolada.

As proteínas Cry5Aa e Cry5Ab, Cry6Aa e Cry6Ba e Cry12Aa são descritas como ativas contra ácaros (HOFTE; WHITELEY, 1989; MONNERAT; BRAVO, 2000; CRICKMORE et al., 2008), sendo portanto interessante a tentativa de se formular produtos contendo apenas essas proteínas para realização de experimentos em *T. urticae*. Para isso, pesquisas futuras envolvendo a caracterização molecular são importantes para se determinar as proteínas envolvidas na atividade tóxica dos isolados testados

Quanto à relação das proteínas Cry com receptores específicos presentes nas microvilosidades das células epiteliais do intestino médio, existe muita controvérsia, pois essa interação engloba inúmeros processos químicos e metabólicos, onde, qualquer alteração em um desses processos pode ocasionar uma maior ou menor atividade tóxica. Alguns autores consideram que há uma correlação positiva entre a ligação da toxina no receptor intestinal e a toxicidade (HOFMANN et al., 1988; VAN RIE et al., 1989; FIUZA et al., 1996). Em contrapartida outros autores descrevem que o reconhecimento do receptor é necessário, mas não é suficiente para provocar a toxicidade (WOLFERSBERGER, 1990), conforme Aranda et al. (1996) que afirmaram não existir relação entre a capacidade de ligação aos receptores e a toxicidade, considerando ainda que a atuação da proteína é um processo complexo, no qual a ligação com um receptor é uma etapa necessária, mas insuficiente para conferir atividade inseticida.

Os resultados demonstram que há atividade tóxica de *B. thuringiensis* no ácaro rajado, porém ainda devem ser realizados vários trabalhos em laboratório para se chegar a níveis mais elevados de mortalidade. Posteriormente, devem-se procurar alternativas para os testes, tais como caracterizar geneticamente os isolados para a detecção de proteínas, purificá-los para apresentarem apenas as toxinas de interesse e, por fim se testar produtos formulados mais puros e estáveis às condições ambientais, principalmente no que diz respeito a persistência da bactéria.

## 5 CONCLUSÕES

Há evidências da ação de *Bacillus thuringiensis* em *Tetranychus urticae*.

Os isolados que apresentam maior mortalidade (1077 B, 886 F, 941 D e 1024 A) são considerados promissores para pesquisas futuras no uso de *B. thuringiensis* em *T. urticae*.

## 6 REFERENCIAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park-MD, v. 18, p. 265-267. 1925.

ADRIGUETO, J.R.; KOSOSKI, A.R. Desenvolvimento e Conquistas da Produção Integrada de Frutas no Brasil – Até 2004. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas**. Cap.6. p. 81-100, Vitória, ES: Incaper, 2005. 666 p.

ALBUQUERQUE, F. A.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; TORRES, J. B. Efeito de Inseticidas e Acaricidas Sobre Ovos e Fêmeas Adultas do Ácaro Rajado, *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE). **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba-PR, v. 13, p. 1-8. 2003.

ALVES, F.L. A Cultura do Mamão *Carica papaya* no Mundo, no Brasil e no Estado do Espírito Santo. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F.S. da (eds.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Cap.1. p. 13-34, Vitória-ES: Incaper, 2003. 497 p.

ALVES, S. B.; MORAES, S. B. 1998. Quantificação de inoculo de patógenos de insetos, p.765-778. In: S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba-SP, FEALQ, 1163p.

ALY, N. A. H. PCR Detection of *cry* Genes in Local *Bacillus Thuringiensis* Isolates. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Cairo-Egypt. v. 1, p. 461-466, 2007.

ARANDA, E.; SÁNCHEZ, J.; PEFEROEN, N.; GUERRECA, L.; BRAVO, A. Interaction of *Bacillus thuringiensis* crystal protein with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, New York-USA, v. 68, n. 3, p. 203-212, 1996.

BADILLO, V.M. **Caricaceae**: segundo esquema. Revista de La Facultad de Agronomía. Maracay-Venezuela, v. 43, 1993. 111 p.

BENZ G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. In: BURGESS, H. D.; HUSSEY, N. W. (Ed.). **Microbial control of insects and mites**. Londres: Academic Press, 1971. cap. 14, p. 327-356.

BOTEON, M. Desafios da Fruticultura e o Mercado de Mamão. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas**. Cap.1. p. 15-22, Vitória-ES: Incaper, 2005. 666 p.

BOHOROVA, N.; CABRERA, M.; ABARCA, C.; QUINTERO, R.; MACIEL, A. M.; BRITO, R. M.; HOISINGTON, D. BRAVO. A. Susceptibility of four tropical lepidopteran maize pests to *Bacillus thuringiensis* CryI-type insecticidal proteins. **Journal of Economic Entomology**, College Park-MD, v. 90, n. 2, p. 412-415, 1997.

BRAVO A., QUINTERO R. Importancia y potencial del *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas. Oficina regional de la FAO para America Latina y el Caribe. **Rede de cooperation tecnica en Biotecnologia Vegetal (REDBIO)**, 30 p. Santiago-Chile. 1993.

BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLALOBOS, F. J.; PENA, G.; NUNEZVALDEZ, M. E.; SOBERON, M.; QUINTERO, R. Characterization of *cry* genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 64, n. 12, p. 4965-4972, 1998.

CAROZZI, N. B.; KRAMER, V. C.; WARREN, G. W.; EVOLA, S.; KOZIEL, M. G. Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polimerase chain reaction product profiles. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 57, n. 11, p. 3057-3061, 1991.

CERÓN, J.; ORTÍZ, A.; QUINTERO, R.; GUERECA, L.; BRAVO, A. Specific PCR primers directed to identify *cryI* and *cryIII* genes within a *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 61, p. 3826-3831. 1995.

CHEN, M.H.; CHEN, C.C.; WANG, D.N.; CHEN, F.C. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Carica papaya* x *Carica cauliflora* cultured in vitro. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa-Canadá, v. 69, n. 9, p. 1913-1918, 1991.

COLLIER, K. F. S.; LIMA, J. O. G.; ALBUQUERQUE, G. S. Predacious Mites in Papaya (*Carica papaya* L.) Orchards: In Search of a Biological Control Agent of Phytophagous Mite Pests. Scientific note. **Neotropical Entomology**, Londrina-PR, v. 33, p. 799-803, 2004.

COLLIER, K. F. S.; ALBUQUERQUE, G. S.; LIMA, J. O. G.; PALLINI, A.; MOLINARUGAMA, A. J. *Neoseiulus idaeus* (Acari: Phytoseiidae) as a potential biocontrol agent of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in papaya: performance on different prey stage – host plant combinations. Springer, **Experimental & Applied Acarology**, Amsterdam-Holanda, p. 27-36, 2007.

COPPING, L. G.; MENN, J. J. 2000. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, v. 56, n. 5, p. 651-676.

CRANHAM, J. E.; HELLE, W. Pesticide resistance in tetranychidae. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Ed.) **Spider mites**. Their biology, natural enemies and control. Amsterdam-Holland, Elsevier, 1985. p. 405-421.

CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; FEITELSON, J.; SCHNEPF, E.; LAMBERT, B.; LERECLUS, D.; GAWRON-BURKE, C. AND DEAN, D. H. Revision of the nomenclature for *Bacillus thuringiensis cry* genes, p. 14. In: **Program and abstracts of the 28th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology**. Society for Invertebrate Pathology, Ithaca-USA. 1995.

CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; SCHNEPF, E.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; BRAVO, A.; DEAN, D. H. ***Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature**. Disponível em: [http://www.biols.susx.ac.uk/Home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.biols.susx.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/). Acesso em: 26 out. 2008.

DIAS, J. M. C. S. Produção e utilização de bioinseticidas bacterianos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 27, p. 59-76. 1992.

EDWARDS D. L., PAYNE J., SOARES G. G. Novel isolates of *Bacillus thuringiensis* having activity against nematodes. **European Patent Application**, EP 0 303 426 A2. 1988.

FATORETTO, J. C.; SENA, J. A. D.; BARRETO, M. R., LEMOS, M. V. F.; BOIÇA JUNIOR, A. L. Associação de bioensaios e caracterização molecular para seleção de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* efetivos contra *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina-PR. v. 36, p. 737-745. 2007.

FEITELSON J. S., PAYNE J., KIM, L. *Bacillus thuringiensis* insects and beyond. **Bio-technology**, New York-USA, v. 10, p. 271-275. 1992.

FILHO, A. B. E.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C. Toxicidade de Acaricidas sobre Diferentes Estágios de Vida de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em Mamoeiro. **BioEssay**, Cambridge, v. 3, p. 6, 2008.

FIUZA, L. M.; LEROUX, N. C.; GOZÉ, E.; FRUTOS, R.; CHARLES, J. F. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry I toxins to the midgut brush border membrane vesicles of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae): Evidence of shared binding sites. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 62, p. 1544-1549, 1996.

FLECHTMANN, C. W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo: Nobel, 1985. 189p.

GARCIA, M. A.; SIMÕES, M.; HABIB, M. E. M. Possible reasons of resistance in larvae of *Spodoptera frugiperda* (Abbot & Smith, 1797) infected by *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Revista de Agricultura**, Piracicaba-SP, v. 57, p. 215-222, 1982.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. 2000. ***Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley, 350 p.

GITAHY, P. M.; SOUZA, M. T.; MONNERAT, R. G.; ARRIGONI, E. B.; BALDANI, J. I. A Brazilian *Bacillus thuringiensis* Strain Highly Active to Sugarcane Borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 531-537. 2007.

HALL, I. M.; HUNTER, D. K.; ARAKAWA, K. Y., 1971. The effect of the  $\beta$ -exotoxin fraction of *Bacillus thuringiensis* on the citrus red mite. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York-USA, v. 18, p. 359-362.

HELLE, W., SABELIS, M. W., 1985. **Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control**, vol. 1B. Elsevier, Amsterdam, 458 pp.

HOFMANN, C.; VANDERBRUGGEM, H.; HOFTE, H.; VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; VAN MELLAERT, H. 1988. Specificity of Bt delta-endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts. **Proceedings of the National Academic Sciences of U.S.A.**, Washington-DC, v. 85, p. 7844-7848.

HOFTE, H.; WHITELEY, H. R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, Washington-DC, v. 53, n. 3, p. 242-255.

IBRAF. Estatísticas. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>. Acesso em 20 set. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA - IBGE. 2006. **Produção Agrícola Municipal: Culturas Temporárias e Permanentes**. ISSN 0101-3963. Pesquisa agrícola municipal, Rio de Janeiro-RJ, v. 33, p. 1-133.

JANSSEN, A.; PALLINI, A.; VENZON, M.; SABELIS, M. W. Behaviour and indirect interactions in food webs of plant-inhabiting arthropods. **Experimental & Applied Acarology**, Amsterdam-Holland, v. 22, n. 9, p. 497-521, 1998.

KOPPENHOFER, A. M.; KAYA, H. K. Additive and synergistic interaction between entomopathogenic nematodes and *Bacillus thuringiensis* for scarab grup control. **Biological Control**, Dordrecht, v. 8, n. 2, p. 131-137, 1997.

KRIEG, A., 1968. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* exotoxin on *Tetranychus telarius* (Acarina: Tetranychidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, New York-EUA, v. 12, p. 478.

KRIEG, A.; LANGENBRUCH, G. A. Susceptibility of arthropod species to *Bacillus thuringiensis*. In: Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Edited by H.D. Burges. **Academic Press**, London-England. p. 837-896. 1981.

LIMA, A. S. G.; GUIDELLI, A. M.; ABREU, I. L.; LEMOS, M. V. F. Identification of new isolates of *Bacillus thuringiensis* using rep-PCR products and  $\delta$ -endotoxin electron microscopy. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto-SP, v. 25: p. 225-229. 2002.

MALAVASI, A.; MARTINS, D. dos S. Origem e aplicações futuras do conceito de *Systems Approach*. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas**. Cap. 3, p. 43-53, Vitória-ES: Incaper, 2005. 666 p.

MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da (eds.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória-ES: Incaper, 2003.

MARTINS, D. dos S.; MALAVASI, A. *Systems Approach* na produção de mamão do Espírito Santo, como garantia de segurança quarentenária contra moscas-das-frutas. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da (eds.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Cap. 11, p. 345-386, Vitória-ES: Incaper, 2003.

MARTINS, D. dos S.; MARIN, S. D. L. Pragas do mamoeiro. p. 143-149. In: BRAGA SOBRINHO, R., CARDOSO, J. C.; FREIRE, F. C. O. (eds.), **Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial**. EMBRAPA – CNPAT, Brasília-DF, 1998, 209 p.

MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas**. Vitória-ES: Incaper, 2005. 666 p.

MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória-ES: Incaper, 2003. 714 p.

MARTINS, D. dos S. Situação atual da produção integrada de mamão no Brasil. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Cap. 7, p. 97-127, Vitória-ES: Incaper, 2003. 714 p.

MIYASONO, M.; INAGAKI, S.; YAMAMOTO, M.; OHBA, K.; ISHIGURO, T.; TAKEDA, R.; HAYASHI, Y. Enhancement of delta-endotoxin activity by toxin-free spore of *Bacillus thuringiensis* against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York-EUA, v. 63, p. 111-112. 1994.

MONNERAT, R. G.; BORDAT, D.; BRANCO, M. C.; FRANÇA, F. H. Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner e Inseticidas Químicos Sobre a Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Yponomeutidae) e Seus Parasitóides. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, São Paulo-SP, v. 29, n. 4, p. 723-730, 2000.

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: Melo, I. S.; Azevedo, J. L., (eds.). **Controle Biológico**. Jaguariúna-SP, Embrapa Meio Ambiente, v. 3, p.163-200, 2000.

MONERATT, R. G. **Utilização de *Bacillus thuringiensis* endofíticos para controle de insetos-praga do algodoeiro**. Embrapa recursos genéticos e biotecnologia. Brasília-DF, 2004. 32 p.

MONTEIRO, L. B. Efeito de inseticidas utilizados para o controle de mosca-das-frutas em pomares de macieira sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). **Scientia Agraria**, Curitiba-PR, v. 2, n. 1,2, p. 81-85, 2001b.

MONTEIRO, L. B. Manejo Integrado de *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) em macieira. Primeiras experiências com a introdução de *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). In: Simpósio Fruticultura de Clima Temperado do Cone Sul, Caçador-SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 16, n. 1, p. 46-53, 1994a.

MONTEIRO, L. B. Manejo Integrado de pragas em macieira no Rio Grande do Sul. Uso de *Neoseiulus californicus* McGregor para o controle de *Panonychus ulmi* Koch. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 23, n. 2, p. 395-405, 2002.

MONTEIRO, L. B. Seletividade de inseticidas a *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) em macieira, no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 23, n. 3, p. 589-592, 2001a.

MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. W. **Manual de Acarologia: Acarologia Básica e Ácaros de Plantas Cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto-SP: Holos, Editora. 2008. 308 p.

NAVON A. Control of Lepidopteran Pests with *Bacillus thuringiensis*. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J.; HIGGS S. ***Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice***, p. 125-146. 1993.

OLIVEIRA, C. A. L. 1988. Ácaros do mamoeiro. p. 197-205. In: Ruggiero, C. (ed.), **Simpósio brasileiro sobre a cultura do mamoeiro**, v.2. Jaboticabal: Anais. Jaboticabal-SP: FCAV-UNESP, 428 p.

PEYRONNET, O.; VACHON, V.; BROUSSEAU, R. Effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on the membrane potential of lepidopteran insect midgut cells. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 63, n. 5, p. 1679-1684, 1997.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis* no Manejo Integrado de Pragas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 31: p. 18-27, 2003.

POLANCZYK, R. A.; MARTINEZ, S.; OMOTO, C.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociência**, Montevideú-Uruguai, v. 7, p. 1-10, 2003.

POLANCZYK, R. A.; SILVA, R. F. P. da; FIUZA, L. M. Isolamento de *Bacillus thuringiensis* BERLINER a partir de amostras de solos e sua patogenicidade para *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). **Agrociência**, Montevideú-Uruguai, v. 10, n. 2, p. 209-214, abr-jun, 2004.

POLANCZYK, R. A.; VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R. Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Org.). **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios**. 1. ed. Piracicaba-SP: FEALQ, 2008, v. 1, p. 111-136.

POLETTI, M.; COLLETTE, L. P.; OMOTO, C. Compatibilidade de Agrotóxicos com os Ácaros Predadores *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae). **BioEssay**, Cambridge, v. 3, p. 3, 2008.

POLETTI, M.; MAIA, A. H. N.; OMOTO, C. Toxicity of neonicotinoid insecticides to *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) and their impact on functional response to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Biological Control**, Dordrecht, p. 30-36, 2006.

PORCAR, M.; JUARÉZ-PÉREZ, V. PCR-based identification of *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal genes. **Microbiology Reviews**, Washington-DC, v. 26, n. 5, p. 419-432, 2003.

PRATES, R. S. Aspectos operacionais do programa de exportação do mamão brasileiro para os Estados Unidos: sete anos de sucesso. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas**. Vitória-ES: Incaper, 2005. 666 p.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, G. S.; OLIVEIRA, R. G. S. Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v. 36, n. 2, p. 369-377, 2006.

RICE, W. C. 1999. Specific primers for the detection of vip3A insecticidal gene within a *Bacillus thuringiensis* collection. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 28, n. 5, p. 378-382.

RUGGIERO, C.; DURIGAN, J. F.; GOES, A.; NATALE, W.; BENASSI, A. C. Panorama da Cultura do Mamão no Brasil e no Mundo: Situação Atual e Tendências. In: MARTINS, D. dos S. **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Cap.1. p. 13-34, Vitória-ES: Incaper, 2003. 714 p.

SATO, M. E.; SILVA M. Z.; RAGA, A.; FILHO, M. F. S. Abamectin Resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): Selection, Cross-Resistance and Stability of Resistance. **Neotropical Entomology**, Campinas-SP, v. 34, p. 991-998, 2005.

SATO, M. E.; SILVA, M. Z.; CANGANI, K. G.; RAGA, A. Seleções para resistência e suscetibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* ao acaricida clorfenapir. **Bragantia**, Campinas-SP. v. 66, n. 1, p. 89-95, 2007.

SATO, M. E.; PASSEROTTI, C. M.; TAKEMATSU, A. P.; FILHO, M. F. S.; POTENZA, M. R.; SIVIERI, A. P. Resistência de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) a acaricidas, em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), em Paranapanema e Jundiaí-SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo-SP, v. 67, n. 1, p. 117-123. 2000.

SATO, M. E. Monitoramento da resistência do ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch a acaricidas. **Relatório**, Instituto Biológico de Campinas-SP. 2003. 16 p.

SCHNEPF, 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**, Washington-DC, v. 62, n. 3, p. 775-806, 1998.

SILVA, A. L. Controle Químico ao Ácaro Rajado *Tetranychus urticae* (Koch 1836) Bordeaux & Dosse 1963, em Tomateiros. **Departamento Fitossanitário**, Universidade Federal de Goiás. 1971.

SILVA-WERNECK, J. O.; NETO, J. R. M. V. A.; TOSTES, A. N.; FARIA, L. O.; DIAS, J. M. C. S. D. Novo isolado de *Bacillus thuringiensis* efetivo contra a lagarta-do-cartucho. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília-DF, v. 35, n. 1, p. 221-227. 2000.

SOBRINHO, R. B. et al. **Pragas de Fruteiras Tropicais de Importância Agroindustrial**. Embrapa: Brasília-DF. SPI, 1998.

TAMAI M. A.; ALVES S. B.; ALMEIDA J. E. M. de; FAION M. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo-SP, v. 69, n. 3, p. 77-84. 2002.

TAMEZ-GUERRA, P.; GALÁN-WONG, L. J.; MEDRANOROLDÁN, H.; GARCIA-GUTIÉRREZ, C.; RODRIGUEZ-PADILLA, C.; GOMEZ-FLORES, R. A.; TAMEZ-GUERRA, R. S. **Bioinseticidas**: su empleo, producción y comercialización en México. *Ciencia UANL*, v. 4, n. 2, 2001. p. 143-152.

Van DER GEEST, L. P. S. Pathogens of Spider Mites. In: HELLE, W., SABELIS, M. W. **Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control**. vol. 1B. Elsevier, Amsterdam-Holland, 458 p. 1985. Cap.2.4, p. 247-258.

Van FRANKENHUYZEN, K. The Challenge of *Bacillus thuringiensis*. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S., BAILEY M. et al. **Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice**. Chichester: John Wiley & Sons, 1993. cap.1, p. 1-34.

Van RIE, J.; JANSSENS, S.; HOFTE, H.; DEGHEELE, D.; VAN MELLAERT, H. 1990. Receptors on the brush border membrane insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 56, p. 1378-1385.

VARGAS, R.; CHAPMAN, B.; PENMAN, D. R. Toxicity of Thuringiensin on Immature and Adult Stages of *Tetranychus urticae* KOCH and *Panonychus ulmi* (KOCH) (Acarina: Tetranychidae). **Agricultura Técnica**, Chile, v. 61, n. 1, 2001.

VENZON, M.; FADINI, M. A. M.; ROSADO, M. C. Controle biológico de pragas de fruteiras. In: ZAMBOLIM, L. **Produção integrada de fruteiras tropicais - Manejo integrado de doenças e pragas**. Viçosa-MG: Suprema Gráfica e Editora, 2003. p. 223-242.

VIEIRA, M.R. Efeito acaricida de extratos vegetais sobre fêmeas de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu-SP, v. 8, n. 4, p. 210-217, 2006.

VILAS-BÔAS, G. F. L. T. **Diversidade e estrutura genética de populações de *Bacillus thuringiensis* e de *Bacillus cereus***. Tese de doutorado, FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2002. 102 p.

WATANABE, M. A.; MORAES, G. J. DE; GASTALDO JR., I.; NICOLELLA, G. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. **Scientia Agrícola**, Campinas-SP, p. 75-81, 1994.

WEISER J. Impact of *Bacillus thuringiensis* on applied entomology in Eastern Europe and in Soviet Union. In: Krieg A., Huger A. M. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem Heft**. Paul Parey, Berlin. 1986. 233 p.

WHITELEY H. R., SCHNEPF H. E. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. **Annual review of microbiology**, Palo Alto-CA, v. 40, p. 549-576. 1986.

WOLFERSBERGER, M. Specificity and mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins toxic to lepidopteran larvae: recent insights from studies utilizing midgutbrush border membrane vesicles. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York-USA, 1990. p. 278-282.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D. H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agriculturas pests. In: CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LE ROUX, C. (Ed.). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 81-100.

YU, C. C.; MULLINS, M. A.; WARREN, G. W.; KOZIEL, M. G.; ESTRUCH, J. J. The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A lyses epithelial cells of susceptible insects. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts-USA, v. 63, n. 2, p. 532-536, 1997.