

POS Graduação



Sanidade, Segurança
Alimentar e Ambiental
no Agronegócio

INSTITUTO BIOLÓGICO

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO
ESTADO DE SÃO PAULO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS –
INSTITUTO BIOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE, SEGURANÇA
ALIMENTAR E AMBIENTAL NO AGRONEGÓCIO**

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS PARA O CONTROLE
DO PERCEVEJO-MARROM *Euschistus heros* (Fabricius, 1798).**

SILVIA FERNANDA ESPARZA MORA

**Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança
Alimentar e Ambiental no Agronegócio.**

CAMPINAS, SP

2023

SILVIA FERNANDA ESPARZA MORA

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS PARA O CONTROLE
DO PERCEVEJO-MARROM *Euschistus heros* (Fabricius, 1798).**

**Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do título de Mestra em Sanidade, Segurança
Alimentar e Ambiental no Agronegócio.**

Orientador: Dr. Luis Garrigós Leite

Coorientador: Dr. Fernando Berton Baldo

CAMPINAS, SP

2023

Eu **Silvia Fernanda Esparza Mora**, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Silvia Esparza

Assinatura: _____ Data: 06 / 08 / 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Núcleo de Informação e Documentação – IB

Mora, Silvia Fernanda Esparza.

Prospecção de bactérias entomopatogênicas para o controle do percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798). / Silvia Fernanda Esparza Mora.

- São Paulo, 2023.

55 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2023D.SM06

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbano.

Orientador: Luis Garrigós Leite

Coorientador: Fernando Berton Baldo

Versão do título para o inglês: Prospection of entomopathogenic bacteria for the control of brown stink bug *Euschistus heros* (Fabricius, 1798).

1. Hemiptera 2. Praga 3. Percevejo 4. Controle biológico 5. Bactérias I. Mora, Silvia Fernanda Esparza II. Leite, Luis Garrigós III. Instituto Biológico (São Paulo) IV. Título.

IB/Bibl./2023/06



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA
DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO
Pós-Graduação
Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252
Vila Mariana
Caixa Postal 12898
CEP 04010-970 - São Paulo / SP
secretariagg@biologico.sp.gov.br



Curso Reconhecido de acordo com o disposto na Portaria MEC N° 609 de 14/03/2019 - D.O.U. 18/03/2019

ATA DA SESSÃO PÚBLICA PARA JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE SILVIA FERNANDA ESPARZA MORA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE, SEGURANÇA ALIMENTAR E AMBIENTAL NO AGRONEGÓCIO, NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM SEGURANÇA ALIMENTAR E SANIDADE NO AGROECOSSISTEMA, DO INSTITUTO BIOLÓGICO.

Aos 20 de Julho de 2023 às 8h00min, na pós-graduação da sede do Instituto Biológico, a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Luis Garrigos Leite - Instituto Biológico (orientador), Prof^ª. Dr^ª. Julie Giovanna Chacón Orozco - Instituto Biológico, Prof. Dr. Gileno Vieira Lacerda Júnior - Embrapa Meio Ambiente se reuniu sob a presidência do primeiro a fim de proceder à arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de Silvia Fernanda Esparza Mora, intitulada: "Avaliação de bactérias entomopatogênicas para o controle do percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798)". A sessão pública foi aberta pelo Prof. Dr. Luis Garrigos Leite - Instituto Biológico, na qualidade de Orientador e Presidente da Comissão Examinadora, que passou a palavra para a candidata, para exposição oral de seu trabalho, com duração de até 45 minutos. Em seguida, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora que, em sessão secreta, deliberou pela APROVAÇÃO unânime da candidata. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata que, após ser lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. Luis Garrigos Leite - Instituto Biológico

Prof^ª. Dr^ª. Julie Giovanna Chacón Orozco - Instituto Biológico

Prof. Dr. Gileno Vieira Lacerda Júnior - Embrapa Meio Ambiente

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por um logo mais na minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo financiamento da minha bolsa de estudo.

Ao Instituto Biológico, por me dar a oportunidade de fazer parte do Programa de Pós-graduação.

Ao laboratório de Controle Biológico, por me fornecer os recursos e instalações adequadas para o desenvolvimento de o meu projeto.

Ao Dr. Luís Garrigós Leite, pela oportunidade de fazer parte do grupo, me orientar, aportar os seus conhecimentos e confiar em mim.

Ao Dr. Fernando Berton, por sua dedicação, apoio, orientação e por me incentivar.

Ao Dr. Ricardo Harakava, por sua ajuda e disponibilidade em contribuir no desenvolvimento deste projeto.

Aos meus companheiros do laboratório de Controle Biológico, por me apoiar, ajudar e alegrar os meus dias.

Aos meus pais Jairo e Fabiola, por ser a minha maior motivação, por o seu amor e por me apoiar em todo.

A minha irmã Alejandra, por seus conselhos, sua confiança e por seu o meu orgulho e melhor exemplo.

A minha família, por o incentivo e amor.

A Julie, por toda sua ajuda, parceria e por me motivar e incentivar sempre.

A Lilian, por sua amizade, cumplicidade e carinho.

A Tiago, por o seu apoio e carinho, por estar sempre para mim, alegrar minha vida e fazer que toda esta experiencia tivesse sido ainda mais maravilhosa.

A todos os que me motivaram e contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

MORA, S.F.E. Prospecção de bactérias entomopatogênicas para o controle do percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798). 2023. Dissertação (Mestra em Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio – Instituto Biológico).

O percevejo-marrom *Euschistus heros* é considerado uma das principais pragas no Brasil por causar prejuízos em diversas culturas. Atualmente, a principal forma de controle é o uso de inseticidas químicos, no entanto, o uso excessivo resulta no desenvolvimento de populações resistentes e contaminação ambiental. Devido a isso existe a necessidade de explorar novas alternativas de controle mais sustentáveis, como os agentes biológicos. Dentre esses, bactérias entomopatogênicas têm comprovada atividade tóxica em diversas famílias de insetos e ácaros, porém há carência de pesquisas para o controle desse percevejo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar bactérias com potencial de controle do percevejo-marrom. Para isso, foi realizada uma pré-seleção representada por 125 isolados bacterianos que foram avaliados em condições de laboratório. Logo, foram selecionados os que apresentaram as taxas de mortalidade de *E. heros* mais altas para testes usando às bactérias diluídas ao 10% de concentração. Os dados foram expressos em porcentagens e analisados estatisticamente com o teste de Scott & Knott. Os melhores isolados foram identificados molecularmente e foi realizada uma curva de dosagem de cada bactéria. Entre as cepas testadas na pré-seleção, 19 apresentaram níveis de mortalidade acima do 31%. Na avaliação das bactérias diluídas, somente 7 isolados apresentaram índices de mortalidade maiores a 26,67%. Das 3 melhores bactérias, 2 foram identificadas como *Serratia ureilytica* e 1 como *Bacillus toyonensis*, respectivamente. Desse modo foi possível concluir que essas duas bactérias foram promissoras para exploração como antagonistas de insetos hemípteros, sendo necessários novos estudos para verificar o modo de ação das bactérias contra *E. heros*.

Descritores: Hemíptera, praga, percevejo, controle biológico, bactérias.

ABSTRACT

MORA, S.F.E. Prospection of entomopathogenic bacteria for the control of brown stink bug *Euschistus heros* (Fabricius, 1798). 2023. Dissertation (Master in Vegetal Health, Food and Environmental Safety in Agribusiness) - Instituto Biológico.

The brown stink bug *Euschistus heros* is considered one of the main pests in Brazil for causing damage to several crops. Currently, the main way to control is the use of chemical insecticides; however, excessive use results in the development of resistant populations and environmental contamination. Therefore, there is a need to explore new alternatives for more sustainable control, such as biological agents. Among these, entomopathogenic bacteria have proven toxic activity against various families of insects and mites, but there is a lack of research for the control of this stink bug. Therefore, the objective of this work was to evaluate bacteria with potential to control the brown bug. For this, a pre-selection was performed, represented by 125 bacterial isolates that were evaluated under laboratory conditions. Therefore, those with the highest *E. heros* mortality rates were selected for testing using bacteria diluted at 10% concentration. The data were expressed in percentages and analyzed statistically using the Scott & Knott test. Subsequently, the best isolates were molecularly identified, and a dosage curve was performed for each bacterium. Among the strains tested in the pre-selection, 19 showed mortality levels above 31%. In the evaluation of the diluted bacteria, only 7 isolates showed mortality rates greater than 26.67%. Of the top 3 bacteria, 2 were identified as *Serratia ureilytica* and 1 as *Bacillus toyonensis*, respectively. Thus, it was possible to conclude that these two bacteria were promising for exploration as antagonists against hemipteran insects, and further studies are needed to verify the mode of action of these bacteria against *E. heros*.

Key words: Hemiptera, pest, stink bug, biological control, bacteria.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	<i>EUSCHISTUS HEROS</i> (F.)	14
3.1.1	CARÁCTERÍSTICAS GERAIS E MORFOLOGIA	14
3.1.2	CICLO DE VIDA	14
3.1.3	PERCEVEJO-MARROM <i>E. HEROS</i> NA AGRICULTURA	17
3.2	PRINCIPAIS MÉTODOS DE CONTROLE DE INSETOS-PRAGA NA AGRICULTURA	19
3.3	MÉTODOS DE CONTROLE DO PERCEVEJO-MARROM.	21
3.3.1	MONITORAMENTO.....	21
3.3.2	CONTROLE QUÍMICO	22
3.3.3	CONTROLE BIOLÓGICO	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	CRIAÇÃO DOS PERCEVEJOS	26
4.2	ISOLADOS BACTERIANOS.....	26
4.3	PRÉ-SELEÇÃO DAS BACTÉRIAS (<i>SCREENING</i>).....	26
4.4	TESTES EM BAIXA CONCENTRAÇÃO	27
4.5	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS BACTÉRIAS	28
4.6	CURVA DE CONCENTRAÇÃO	29
4.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
6	CONCLUSÕES.....	46
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemíptera: Pentatomidae), nativo da Região Neotropical, é considerado um dos principais e mais abundantes insetos praga no Brasil. Tratasse de um inseto sugador com importância agrícola, pois está presente nas diferentes etapas de desenvolvimento de plantas de tipo leguminosas, ocasionando grandes prejuízos e perdas econômicas para os agricultores, expressados em diminuição de quantidade e qualidade com índices de até 90% de quebra na produção (KRINSKI et al., 2013; SMANIOTTO; PANIZZI, 2015).

Atualmente, o principal método de controle do percevejo-marrom são os inseticidas químicos, simples ou misturados, distribuídos entre os neonicotinóides, piretróides e organofosforados (BALAN et al., 2005; RIBEIRO et al., 2016; TUELHER, 2018).

A disponibilidade de só três ingredientes ativos para o seu controle e a aplicação indiscriminada desses compostos nas plantas, tem ocasionado perdas de biodiversidade, afetando os organismos não-alvo, a saúde humana e estimulando a presença de populações de pragas resistentes (FLORES-VILLEGAS et al., 2019; AGROFIT, 2020; ADEMOKOYA et al., 2022).

Por isso, tem-se explorado alternativas de controle menos impactantes, como o controle biológico. Este tipo de controle tem ganhado muita importância, pois permite restaurar o equilíbrio biológico entre os insetos-praga e seus inimigos naturais, permitindo um controle mais estável desses insetos mantendo o nível de dano econômico baixo (CORRÊA-FERREIRA, 1993; NAVA, 2007).

Dentre os agentes de controle biológico de *E. heros* estão parasitoides, nematoides, fungos e bactérias. A utilização de parasitoides de ovos de percevejo é o método mais estudado e implementado, mas sua eficiência no controle tem diminuído consideravelmente pelo uso incorreto dos produtos químicos, além das limitações na produção dos parasitoides em escala comercial (BUENO et al., 2012; CORRÊA-FERREIRA e SOSA-GOMEZ, 2017; EMBRAPA, 2019).

Nematoides e suas bactérias simbiotes têm sido testados contra algumas espécies de hemípteros, incluindo percevejos (MARRERO et al., 2015). O seu uso tem apresentado resultados promissores, com índices significativos de mortalidade dos insetos. No entanto, sua eficiência tem sido comprometida pela especificidade de inseto hospedeiro, requerendo o uso de diferentes cepas para controle de pragas em uma mesma cultura (FRANCE, 2013).

Dentre os fungos entomopatogênicos, são recomendadas as espécies *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para o controle do percevejo-marrom, mas o seu uso não tem sido tão favorável, pois necessidade de condições ambientais adequadas para seu estabelecimento no campo (PICANCO, 2010; RESQUÍN-ROMERO et al., 2020; POVEDA, 2021).

Outra alternativa promissora são as bactérias da família Bacillaceae, que tem atividade tóxica comprovada em diversos grupos de insetos e ácaros. Possuem também capacidade de formação de endósporos, que são termotolerantes e apresentam inocuidade a vertebrados e plantas (MONTEIRO, 2002). Algumas espécies do gênero *Bacillus*. possuem a capacidade de formação de cristais, tendo potencial entomopatogênico, o que já é bastante estudado e explorado pelo mercado (SALLES; BALDANI, 1998). Enquanto outras espécies, possuem a capacidade de desenvolver respostas antagônicas em doenças de plantas, sendo estudadas e usadas para o biocontrole, e algumas ainda possuem a capacidade de ser promotoras de crescimento em plantas (FILHO et al., 2010).

A quantidade de produtos biológicos a partir de bactérias para o controle de percevejos ainda é muito pequena, refletindo uma carência de pesquisas, e exibindo a necessidade de investimento nessa alternativa de controle. A Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, situada no Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal do Instituto Biológico, em Campinas-SP, possui uma Coleção de Bactérias Entomopatogênicas, com grande diversidade de isolados. Visto o potencial de diversidade de bactérias presentes no banco e que ainda não foram testadas contra percevejos, justifica-se a realização deste estudo, que possibilita a descoberta de isolados eficientes contra o percevejo-marrom *E. heros*, contribuindo no desenvolvimento de novas estratégias sustentáveis de manejo integrado de percevejos, que incluem o uso de bactérias como agentes de controle biológico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação de bactérias entomopatogênicas com potencial de controle do percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar pré-seleção (screening) das bactérias contra adultos de *E. heros*;
2. Testar os isolados bacterianos mais eficientes em diluição 1:10;
3. Identificar molecularmente as espécies de bactérias com maior potencial de controle do percevejo-marrom;
3. Construir curva de concentração dos melhores isolados bacterianos contra *E. heros*

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Euschistus heros* (F.)

3.1.1 Características gerais e morfologia

Os percevejos são insetos pertencentes à ordem hemíptera e família Pentatomidae, são considerados pragas de grande importância no setor agrícola. Possuem um aparelho bucal de tipo “sugador”, com peças bucais adaptadas para perfurar e sugar plantas; colonizam as plantas em vários estágios de desenvolvimento, causando perdas econômicas significativas, que podem chegar até 90% de quebra na produção (GALLO et al., 2002; BELORTE et al., 2003; SOARES et al., 2013; SMANIOTTO & PANIZZI, 2015)

O complexo de percevejos está composto por aproximadamente 4.123 espécies, sendo o percevejo verde (*Nezara viridula*), percevejo verde pequeno (*Piezodorus guildinii*), o percevejo barriga verde (*Dichelops furcatus*) e o percevejo marrom (*Euschistus heros*) os mais destacados. Destes, o percevejo-marrom é a praga mais abundante e importante em culturas de leguminosas como a soja, o trigo e feijão (FREITAS, 2011).

O percevejo-marrom *E. heros* é nativo da Região Neotropical e apresenta uma ampla distribuição geográfica. Nas regiões produtoras de soja no Brasil, tem-se observado um importante aumento populacional, estando presente desde o Sul até o Norte do país (FERREIRA, 2013; CORRÊA-FERREIRA & PANIZZI, 1999; PEREIRA & SALVADORI, 2008; BRIDI, 2012).

E. heros é adaptado às zonas quentes, sendo a faixa de 26 – 28 °C a temperatura mais favorável para o seu desenvolvimento e sua reprodução (BUENO et al., 2017). É considerada uma das espécies de inseto praga mais predominantes na atualidade (KRINSKI et al., 2013).

3.1.2 Ciclo de vida

O percevejo-marrom é um inseto que apresenta uma metamorfose incompleta de aproximadamente 114 dias, composta de 3 fases distintas: ovo, ninfa e adulto (GRAZIA et al., 2012; SOUZA et al., 2013).



Figura 1: Ciclo de vida do percevejo-marrom. Foto: Mora, S F.E.

O estágio de ovo (figura 2), dura cerca de 7 dias, as fêmeas depositam entre cinco e oito ovos de coloração amarelada agrupados em fileira, sendo normalmente depositados nas folhas e vagens de várias culturas. Proximos à eclosão apresentam manchas roséas (ALVES, 2020).



Figura 2: Ovos de *Euschistus heros*. Foto: Mora, S F.E.

Seguidamente, a fase de ninfa (figura 3) está constituída por 5 instares e dura cerca de 29 dias. As ninfas inicialmente são pequenas, com ao redor de 1,3 mm, corpo de cor alaranjado e a cabeça preta-marrom (CATOIA, 2019).



Figura 3: Ninfas de *Euschistus heros* no primeiro instar. Foto: Mora, S F.E.

Quando atigem cerca de 3,6 mm, as ninfas se tornam mais ativas para se dispersar pelas plantas hospedeiras e, a partir do terceiro instar, passam a sugar os grãos da soja, tornando-se fitófagas. Esse comportamento de sucção se prolonga até sua fase adulta (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

Na fase adulta (figuta 4), os percevejos podem chegar até 10 mm de comprimento e sua cor pode variar de cinza a marrom escura, de acordo com as condições ambientais. Uma característica distintiva da espécie é a presença de uma mancha branca em forma de “meia-lua” no dorso, na extremidade do escutelo, e dois prolongamentos laterais, em forma de espinhos, próximos à cabeça que tendem a ser mais longos no verão. (De GRANDE e VIVIAN, 2013; (MOURÃO, 1999).

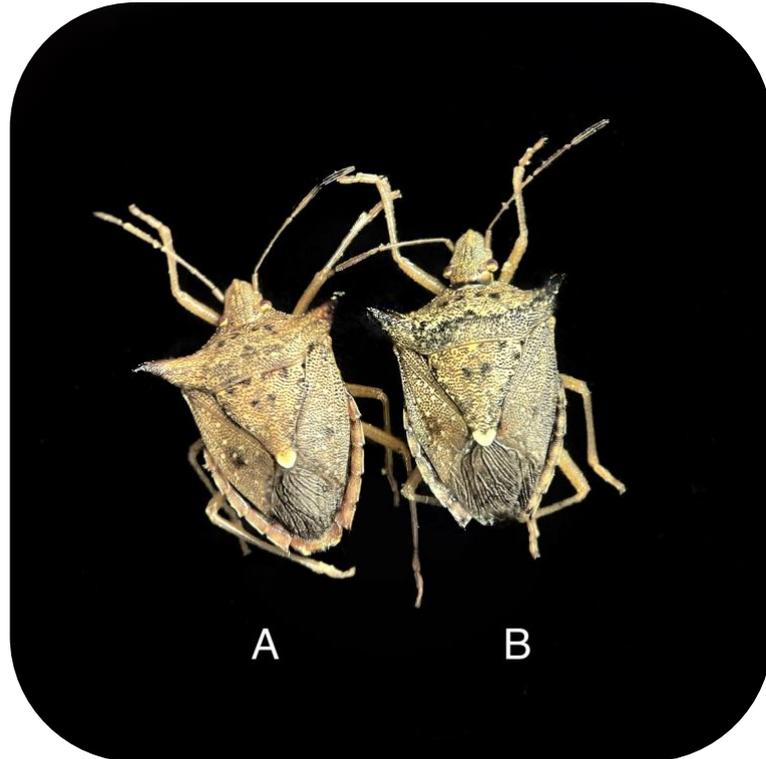


Figura 4: Adultos da espécie *Euschistus heros*. A: Macho. B: Femea. Foto: Mora, S F.E.

3.1.3 Percevejo-marrom *E. heros* na agricultura

Euschistus heros é um inseto sugador de plantas considerado praga agrícola devido ao seu enorme potencial de causar prejuízos em diversas culturas (SOARES et al., 2013).

Seu dano na planta é causado pelo aparelho bucal, com o qual se alimenta inserindo os estiletes e sugando os fluidos delas. Durante esse processo, o percevejo introduz agentes histolíticos tóxicos (enzimas digestivas) que podem comprometer a qualidade e viabilidade das sementes, resultando em plantas com baixo vigor (CORRÊA-FERREIRA, 2003; GALLO et al., 2002; SOARES et al., 2013). Esse processo, junto com a liberação de secreções salivares tóxicas, causam diversos sintomas nas plantas, incluindo o aborto de grãos durante sua fase de formação, alterações morfológicas, como grãos enrugados, achochados ou murchos no processo de enchimento dos grãos, retardamento da maturação (retenção foliar), redução de tamanho das plantas, a destruição de tecidos que levam ao dobramento e murchamento das folhas da planta e favorecer a entrada de fungos como *Alternaria* sp. e *Nematospora* sp. (GAZZONI, 1998; PANIZZI, 2015; PINTO et al., 2004; ROGGIA, 2009).

A principal planta hospedeira do percevejo-marrom é a soja *Glycine max* (L.) (Merrill, 1917), uma planta do tipo oleaginosa nativa da Região Neotropical, onde *E. heros* é considerado

o maior problema fitossanitário desta lavoura (PANIZZI, BUENO, & SILVA, 2012). Também, está presente em culturas como o milho, trigo e o algodão, e pode ocasionar danos na estrutura vegetal e perdas econômicas significativas, especialmente durante a fase reprodutiva. (CÔRREA-FERREIRA et al., 2009; DeGRANDE e VIVAN, 2006; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

O fato de se alimentar diretamente dos grãos, afeta de maneira irreversível o rendimento e qualidade da soja, podendo sofrer alterações no aspecto e nos teores de proteína e óleo, ocasionando consequentes perdas no valor comercial (DeGRANDE e VIVAN, 2006).

Se estima que a presença de um percevejo por metro quadrado de lavoura pode causar redução de entre 49-120 kg/ha desse grão (TRIUNFO, 2020). É por isso que em regiões como Mato Grosso do Sul, *E. heros* resulta em perdas de produção de aproximadamente 40% (DETOMASI, 2015).

O nível de dano dos percevejos está diretamente relacionado com as condições ambientais, o estágio fenológico da planta, a espécie de inseto-praga, sua fase de desenvolvimento, o seu nível populacional e o seu tempo de permanência na cultura (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009).

O percevejo-marrom se adapta bem às zonas quentes e de baixa umidade, mas pode se adaptar a diferentes condições ambientais. Um aspecto importante é que após a colheita da soja, ele entra em estado de dormência (diapausa) nos restos da cultura, tempo em que pode permanecer sem alimento, sobrevivendo exclusivamente das suas reservas lipídicas (gorduras) por mais de seis meses (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; GODOY et al., 2010). Os percevejos podem permanecer debaixo das folhas caídas, o que permite se protegerem de parasitas e predadores, tornando o seu controle mais difícil (CORRÊA-FERREIRA & PANIZZI, 1999).

Outro problema crescente nas lavouras brasileiras é a presença de populações resistentes de *E. heros* em culturas como a soja. O surgimento da resistência nesta praga está relacionado à ocorrência natural de mutações e exposição dessas características devido à pressão de seleção e às aplicações sucessivas de inseticidas utilizando o mesmo produto ou mesmo grupo químico ou o seu uso precipitado (aplicação preventiva) (SOSA-GÓMEZ & SILVA, 2010).

3.2 PRINCIPAIS MÉTODOS DE CONTROLE DE INSETOS-PRAGA NA AGRICULTURA

O controle de pragas é uma das principais estratégias utilizadas na agricultura para evitar prejuízos nas lavouras. Para isso, é fundamental realizar um monitoramento adequado da praga e levar em consideração fatores como a fenologia da planta, as condições climáticas, a identificação da fase de desenvolvimento do inseto, seu nível populacional na cultura e os momentos de maior índice de dano na cultura. Com isso, é possível escolher o método de controle mais apropriado (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009). Nesse sentido, os dois principais métodos de controle de pragas agrícolas são o controle químico e o controle biológico.

O primeiro consiste no uso de inseticidas, que possuem como principal mecanismo de ação a interferência no sistema neurotransmissor, dos hormônios ou da produção de cutícula dos insetos-praga, de modo que o seu desenvolvimento fica comprometido (GULLAN & CRANSTON, 2007). No entanto, o uso excessivo e/ou a aplicação preventiva podem promover a resistência de populações de insetos-praga, influenciando diretamente no aumento desses insetos nas próximas safras; reduzir os inimigos naturais, ter efeitos adversos sobre outros organismos não-alvo, ocasionar contaminação ambiental nos sistemas terrestres e aquáticos por acumulação de metais pesados, causar riscos à saúde humana e acarretar prejuízo financeiro (CORRÊA-FERREIRA et al., 2010; SOSA-GÓMEZ & SILVA, 2010; BUENO et al., 2011; BELO et al., 2012; SCOPEL, 2012).

A implementação desses produtos químicos tem sido preocupante para a sociedade, estima-se que apenas 1% desses químicos são utilizados de maneira eficiente e existe uma conscientização sobre a preservação ambiental e a segurança da saúde humana (FISCHER, 2014; TUDI et al., 2021). Devido a isso, tem sido exploradas novas alternativas de controle de pragas menos impactantes como o controle biológico.

O controle biológico é uma estratégia que busca restaurar o equilíbrio entre os insetos-praga e seus inimigos naturais, visando reduzir naturalmente as populações praga e manter o nível de dano econômico aceitável; com a finalidade de ter um controle mais estável desses insetos, aumentar as populações de agentes benéficos e sua preservação nas culturas (CORRÊA-FERREIRA, 1993). Entre as principais vantagens do seu uso está a capacidade de atingir um alvo específico, não afetar os insetos polinizadores e não deixar resíduos no ambiente.

Nesse tipo de controle, são utilizados principalmente inimigos naturais, nematoides entomopatogênicos, fungos, vírus e bactérias. O primeiro grupo é composto por insetos

predadores ou parasitas de pragas que, quando liberados nas plantas, conseguem atacar somente os insetos-praga ou parasitar seus ovos sem prejudicar as culturas e os polinizadores (HARTERREITEN-SOUZA et al., 2017). Dentre eles, destacam-se *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) no controle da broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*), sendo uns dos maiores sucessos de controle biológico no Brasil e no mundo, os ácaros predadores como *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) (Acari: Phytoseiidae) no controle do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), pois são considerados os principais organismos biológicos destinados ao controle de ácaros fitófagos (AHN e LEE, 2010; VACARI et al., 2012).

Os nematoides (NEPs) são organismos que possuem um corpo tubular comprido não segmentado e apresentam 11 famílias utilizadas no controle biológico, sendo que Steinernematidae e Heterorhabditidae são produzidos comercialmente (LEITE, 2013).

Steinernema sp. e *Heterorhabditis* sp. possuem uma associação simbiótica com bactérias do tipo *Xenorhabdus* sp. e *Photorhabdus* sp. Essas bactérias metabolizam nutrientes indispensáveis para o desenvolvimento e reprodução do nematoide e ele consegue protegê-la do ambiente externo (BURNELL & STOCK, 2000; EHLERS, 2001).

O modo de ação desses nematoides é invadir o inseto por aberturas da boca, ânus ou espiráculos e penetrar na hemocele, as bactérias simbióticas produzem endotoxinas que estimulam a degradação da hemolinfa do hospede, resultando na morte do inseto por septicemia (PETERS & EHLERS, 1997; DE-JUN et al., 2001; LEITE, 2013).

Entre os nematoides utilizados no controle biológico, destacam-se *Heterorhabditis bacteriophora* e sua bactéria simbiote *Photorhabdus luminescens* para larvas da traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*), *Steinernema feltiae* e sua bactéria simbiote *Xenorhabdus bovienii* no controle da mosca-minadora (*Liriomyza huidobrensis*), *S. rarum* e *X. szentirmaii* no controle do bicudo da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*) e *S. carpocapsae* com *X. nematophila* no controle das larvas da traça-da-cera (*Galleria mellonella*) e o gorgulho-da-videira (*Otiorhynchus sulcatus*) (CUTHBERTSON et al., 2003; MAHAR et al., 2008; SILVA e LEITE, 2020).

Os fungos são microrganismos eucariotas de grande variabilidade genética, formadores de micélio e constituídos por parede celular rica em quitina (FEOFILOVA, 2010). Entre as espécies mais estudadas e exploradas no mercado agrícola, destacam-se *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. O fungo *Trichoderma* sp. É outro exemplo importante, pois é capaz de controlar diversas pragas, inibindo o crescimento e desenvolvimento de patógenos e

induzindo mecanismos de defesa e proteção (resistência sistêmica) das plantas, além de atuar como promotor de crescimento vegetal, pois sua interação com o solo e as raízes contribui na disponibilização de nutrientes para as plantas e na estabilização de estresse biótico ou abiótico (NUSAIBAH e MUSA, 2019; TYŚKIEWICZ et al., 2022).

Os vírus são organismos microscópicos simples compostos de ácido nucléico e uma cápside proteica, que também têm sido utilizados no controle de pragas. As principais famílias são do tipo *Baculoviridae*, *Iridoviridae* e *Parvoviridae* (VILLAMIZAR et al., 2009). Destacasse o vírus de poliedrose nuclear *Baculovirus anticarsia* específico para o controle biológico da lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatilis*), com índices de controle de até 100% nas lavouras (SAVIO e PINOTTI, 2008).

As bactérias entomopatogênicas, principalmente do gênero *Bacillus*, são amplamente utilizadas no controle de pragas agrícolas. Esse grupo conta com mais de 140 espécies; entre elas destacam-se, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* (FIRA et al., 2018). As duas últimas, possuem a capacidade de produzir inclusões proteicas cristalinas (endotoxinas) que têm sido estudadas e usadas na agricultura, pois apresentam toxicidade para algumas pragas e são inofensivas para vertebrado e a flora. Além disso, a capacidade de formação de endósporos, permite que essas bactérias tenham uma longevidade e a viabilidade maiores no campo (LIMA, 2010; VALTIERRA-DE-LUIS et al., 2020). Outras bactérias também têm a capacidade de desenvolver respostas antagônicas às pragas e estimular o crescimento vegetal (FILHO et al., 2010).

3.3 METODOS DE CONTROLE DO PERCEVEJO-MARROM.

3.3.1 Monitoramento

O monitoramento é uma etapa fundamental no controle de *E. heros*, pois permite avaliar a eficiência do tratamento e tomar decisões estratégicas. Existem dois tipos de monitoramento: as amostragens com o pano-de-batida e a utilização de armadilhas com seu feromônio sexual (SILVA et al., 2012; ALVES, 2020).

O primeiro método envolve a utilização de um tecido branco de 1 metro por 1 metro com dois bastões de madeira inseridos nas bordas laterais (ALVES, 2020). O tecido é colocado no solo e as plantas são sacudidas vigorosamente para que os percevejos caiam nele e assim fazer a contagem de adultos e das ninfas grandes. Este tipo de monitoramento é geralmente realizado

durante o período fresco do dia nas etapas do desenvolvimento das vagens e enchimento dos grãos de soja (STÜRMER et al., 2014). No entanto, a realização deste método necessita de pessoal qualificado e pode precisar de muito tempo em extensões de grandes áreas, onde em alguns casos, estimulem que os agricultores implementem outro método de monitoramento que seja prático e viável, como a utilização de armadilhas com o feromônio sexual de *Euschistus heros* (SILVA et al., 2014).

O feromônio é produzido naturalmente pelo percevejo, utilizando para sua comunicação intraespecífica; sendo composto principalmente de metil 2,6,10 trimetildecanoato, e metil (2E,4Z) -decadionato, segundo a identificação feita por BORGES et al. (1998).

Nesse sentido, para o monitoramento são feitas armadilhas iscadas com o feromônio sintético, as quais são instaladas no perímetro da lavoura para capturar os percevejos e realizar a contagem (SILVA et al., 2014). A vantagem desse método é que por serem compostos naturais, eles não representam risco para o meio ambiente nem para os seres humanos, permitem uma detecção rápida da praga e não geram resistência aos percevejos (MORAES et al., 2008).

Para fazer um bom monitoramento é recomendado fazer amostragens semanalmente desde os estágios vegetativos até o reprodutivo da lavoura, com atenção ao desenvolvimento das sementes, pois é a fase de maior densidade populacional do percevejo (SILVA et al., 2014).

3.3.2 Controle químico

O uso de inseticidas químicos é o método mais comumente empregado para o controle de percevejos em culturas como a soja, sendo aplicado durante as fases vegetativa e reprodutiva da planta por meio de processos de pulverização aérea ou terrestre (BALAN et al., 2005)

Os produtos comerciais mais frequentes utilizados no controle dos percevejos na soja, encontram-se formulações com diferentes combinações de neonicotinóides, piretróides, organofosforados, totalizando 53 formulações simples ou misturadas registradas para o seu uso, como o endosulfan, thiametoxam e lambda-cialitrina (RIBEIRO et al., 2016; TUELHER, 2018; AGROFIT, 2020).

Os neonicotinóides atuam como antagonistas da acetilcolina, ligando-se aos seus receptores nicotínicos e causando um estímulo constante de impulsos nervosos que levam à paralisia e morte do inseto (TAN et al., 2007).

Já os piretróides agem bloqueando os canais de sódio, retardando seu fechamento e mantendo uma entrada constante de sódio (Na) que causa impulsos repetitivos e a posterior morte do inseto (POZEBON E ARNEMANN, 2021).

Por sua vez, os organofosforados atuam diretamente inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase, o que leva a um acúmulo de acetilcolina no organismo do inseto-praga, causando hiperexcitação e morte rápida (CAVALCANTI, 2016).

No entanto, ao se tratar de moléculas de amplo espectro de ação, os inseticidas podem atingir também outros organismos não-alvo, como insetos predadores, parasitoides e os polinizadores, gerando um desequilíbrio no ecossistema (FLORES-VILLEGAS et al., 2019).

Além disso, o grande desenvolvimento de resistência à maioria de inseticidas utilizados no controle de *E. heros* é ocasionado principalmente pela manipulação incorreta desses produtos químicos e/ou da tecnologia de aplicação empregada, fazendo necessária a implementação de estratégias que verifiquem a resistência de algumas populações do percevejo-marrom à determinadas moléculas químicas (SOSA-GOMEZ et al., 2001; SILVA et al., 2009; CORRÊA-FERREIRA et al., 2010).

3.3.3 Controle Biológico

Atualmente, o mercado agrícola conta com 30 produtos biológicos para o controle do percevejo-marrom em diversas culturas, categorizados em insetos parasitas, fungos e bactérias (EMBRAPA, 2022). Entre eles, tem dois produtos com as bactérias *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*, *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas chlororaphis*; assim como os fungos: *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*; e os insetos parasitoides da espécie *Telenomus podisi* (AGROFIT, 2021).

Os micro-himenópteros *Telenomus podisi* (Ahsmead) e *Trissolcus basalus* (Wollaston), têm sido utilizados para o controle de percevejos, sendo esta primeira vespinha, a mais usada contra *E. heros*, com índices de parasitismo dos ovos de entre 50-70% (BUENO et al., 2020). *T. podisi* deposita seus ovos na parte interna dos ovos dos percevejos, matando consequentemente os embriões e estimulando o desenvolvimento das vespinhas. Dentro dos ovos de percevejo se desenvolve a larva e pupa da vespinha, ciclo que demora cerca de 10-12 dias até emergir o adulto (TASCA, 2013; BUENO et al., 2020).

Além do parasitismo em ovos, também existem parasitoides de adultos do percevejo. O mecanismo de ação desses parasitas consiste na colocação dos seus ovos no corpo do

hospedeiro, de modo que conseguem se desenvolver dentro do inseto e migrar pelos orifícios ventrais ou dorsais do abdômen do percevejo, causando sua morte (CORRÊA-FERREIRA 1984). Neste caso, a mosca *Trichopoda nitens* (Tachinidae) é a espécie mais utilizada e a mais abundante. Dentre os himenópteros, *Hexacladia smithii* (Encyrtidae) é considerado o principal parasitoide do percevejo-marrom (CORRÊA-FERREIRA et al., 1998; EMBRAPA, 2019).

Esse tipo de parasitoide ocorre de maneira natural em lavouras como a soja, mas sua eficiência no controle dos percevejos tem sido afetada negativamente pelo uso inadequado de inseticidas químicos e pelas limitações do uso em escala comercial (BUENO, 2012; EMBRAPA, 2019). Já em culturas orgânicas, tem sido observada uma boa contribuição na mortalidade dos ovos de percevejos por esses parasitas (BUENO, 2012).

O uso de agentes microbianos para o controle dessas pragas, tem tido grande importância na atualidade, pois a sua facilidade de produção e armazenamento por longos períodos, permite a produção constante durante todo o ano, dando origem a produtos mais econômicos e competitivos no mercado agrícola. Além disso, os métodos de aplicação desses produtos biológicos são muito semelhantes com a aplicação dos inseticidas químicos, o que permite uma fácil e rápida adoção desses métodos no campo (MARTINS et al., 2016).

Entre os agentes microbiológicos, tem sido utilizados os fungos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Trichoderma* sp. para o controle de diversas pragas, pois possuem atividade parasita e capacidade de produção de metabolitos secundários com ação inseticida. A incidência desses fungos no controle de percevejos é baixa (5%), especialmente devido a resistência apresentada à infecção fúngica e à necessidade de condições ambientais ótimas para o estabelecimento do microrganismo na cultura (PICANCO, 2010; POVEDA, 2021).

Bactérias também têm sido reportadas como possíveis alternativa de controle biológico dos percevejos, mas atualmente não existem suficientes estudos científicos para o uso de bactérias no controle da espécie *Euschistus heros* (SCHÜNEMANN et al., 2014).

Bacillus thuringiensis (BT), produz inclusões proteicas, conhecidas como endotoxinas, que apresentam atividade tóxica em algumas ordens de insetos. Essa bactéria tem potencial para ser utilizada no controle de insetos sugadores por meio da utilização sistêmica ou com o uso de plantas geneticamente modificadas com os genes Cry ativos, tornando-se uma alternativa viável no controle do percevejo-marrom (SILVA et al., 2012)

Também, bactérias associadas a nematoides como *Photorhabdus luminescens* e *Xenorhabdus* sp., que produzem endotoxinas de tipo polissacáridos, antibióticos e outros

metabolitos, que estimulam a degradação do hemocele do inseto e inibe reações de defesa do seu sistema imune, causando sua morte em até 48 horas, poderiam ser efetivas no controle de *E. heros* (DE-JUN et al., 2001., DOWDS & PETERS, 2002; CRAWFORD et al., 2010).

Portanto, é necessária a realização de novas pesquisas, buscando explorar novos organismos que possam apresentar potencial para o controle de *Euschistus heros*, visando gerar novas ferramentas que auxiliem no manejo integrado da praga.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, situado no Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal do Instituto Biológico, em Campinas - SP.

4.1 CRIAÇÃO DOS PERCEVEJOS

Os insetos de percevejo-marrom utilizados neste estudo, foram criados em gaiolas de plástico de 20 x 30 cm, mantidos em sala climatizada com condições de 25°C, Umidade Relativa 60±5%, uma fotófase de 12 horas. Os percevejos foram alimentados com dieta natural composta por vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*), amendoim (*Arachis hypogaea*), semente de girassol (*Helianthus annuus*) e água filtrada.

4.2 ISOLADOS BACTERIANOS

Os isolados bacterianos foram obtidos da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos "Oldemar Cardim Abreu", presente na Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico (ULRCB – IB), mantidos em tubos de criopreservação a -20 e -80°C com glicerol 15 e 20 % respectivamente.

Para a ativação das bactérias, foi inoculado 1 ml do isolado em frascos Schott contendo 50 ml de caldo nutriente (NB) (Extrato de carne – 1 g/l, Extrato de levedura – 2 g/l, peptona – 5 g/l e Cloreto de sódio – 5 g/l) e mantidos em agitação (150 rpm) a 28 °C, durante 72 horas.

4.3 PRÉ-SELEÇÃO DAS BACTÉRIAS (SCREENING)

Foram avaliados 125 isolados bacterianos contra *Euschistus heros*, dos quais 30 eram espécimes conhecidos, considerando cada isolado como um tratamento.

Para os testes, cada tratamento foi submetido a três repetições, cada uma representada por um recipiente plástico (250 ml), contendo 20 ml de vermiculita estéril, dieta natural composta por vagem, amendoim, semente de girassol e água filtrada, e cinco percevejos adultos (figura 5) e 7 ml de caldo bacteriano puro.

Os recipientes foram mantidos em sala climatizada, sob condições de 25°C, UR 60±5 % e fotófase de 12 horas.

As avaliações de mortalidade dos indivíduos foram realizadas durante um período de cinco dias, a cada 24 horas, e os percevejos mortos foram contados e retirados de cada tratamento.



Figura 5. Montagem experimental dos tratamentos. Foto: Mora, S F.E.

4.4 TESTES EM BAIXA CONCENTRAÇÃO

Visando reduzir o número de isolados para prosseguimento nos testes, os isolados que apresentaram porcentagens de mortalidade maiores ao 51 % foram novamente avaliados em baixa concentração (10 %) do caldo bacteriano.

Cada isolado foi produzido nas mesmas condições do anterior experimento, o caldo bacteriano foi diluído a 10 % de concentração em água destilada estéril, e espalhados 7 ml em cada unidade experimental.

Para cada tratamento foram realizadas seis repetições. Como tratamento controle foram aplicados água destilada estéril e caldo nutritivo NB.

As avaliações de mortalidade dos indivíduos foram realizadas durante o período de cinco dias, sendo contabilizados dos indivíduos mortos a cada 24 horas, retirando-se os percevejos mortos de cada tratamento.

4.5 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS BACTÉRIAS

A identificação molecular foi realizada com a amplificação por reação de cadeia Polimerase (PCR) do gene ribossomal 16S, o *gyrB* e o *rpoD* das bactérias, seguido de sequenciamento e comparação de bases nitrogenadas no EzBioCloud 16S e Genbank.

Para isso, as bactérias foram ativadas em caldo nutritivo NB durante 24 horas e semeadas em placas de Petri com meio de cultivo sólido Agar Nutriente (NA) e mantidos em incubadora microbiológica a 30 °C por 24 horas.

Após o crescimento, foi extraído o DNA genômico de cada bactéria empregando-se o kit GenElute Bacterial Genomic DNA (Sigma), seguindo as recomendações do fabricante.

O gene ribossomal 16S rDNA foi amplificado por PCR com os primers fD1 (5' – AGAGTTTGATCCTGGCTCAG – 3') e rP1 (5' – ACGGTTACCTTGTTACGACTT – 3') (WEISBUR et al., 1991).

Fragmento de aproximadamente 880 pb do gene *gyrB* foi amplificado para *Bacillus* com os primers *gyrB*-F (5' – GTNYAYCGTGAYGGNAAAATYC – 3') e *gyrB*-R (5' – GCAGARTCWCCCTCTACRATATA – 3') e um fragmento de aproximadamente 800 pb do gene *rpoD* foi amplificado para *Serratia* com os primers *rpoD*-F (5' – TAYATGMGNGARATGGGNACNGT – 3') e *rpoD*-R (5' – TTNGCYTCNACCATYTCYTTYTT – 3') desenvolvidos pelo Dr. Ricardo Harakava (Pesquisador científico na Unidade Laboratorial de Referência em Biologia Molecular Aplicada (ULRBMA) do Instituto Biológico, SP).

Os produtos amplificados foram purificados por precipitação com PEG 6000 (SCHMITZ; RIESNER, 2006) e sequenciados empregando-se o reagente Big Dye 3.1 (Applied Biosystems) e o sequenciador capilar 3500 xL (Applied Biosystems). As sequências obtidas foram comparadas com sequências de isolados depositados no EzBioCloud 16S e o Genbank. Para a construção das árvores filogenéticas, foi utilizado o método de Neighbor Joining com bootstrap de 1.000 repetições, no programa MEGA 6.0 (TAMURA et al., 2013).

4.6 CURVA DE CONCENTRAÇÃO

As curvas de dosagens foram realizadas de acordo com os melhores resultados dos testes em baixas concentrações. Para isso, foram selecionados os melhores isolados e foram preparadas diferentes concentrações de cada bactéria, incluindo 10, 20, 40, 80 e 100% de concentração dos caldos. Cada isolado foi produzido nas mesmas condições dos experimentos anteriores.

Para cada concentração, foram realizadas seis repetições e o tratamento controle foi feito com meio de cultivo estéril (NB). As avaliações de mortalidade dos percevejos foram realizadas durante cinco dias, contando e retirando os indivíduos mortos de cada tratamento.

Os resultados foram registrados e utilizados para construir um gráfico de curva de dosagens de cada bactéria, apresentando a porcentagem de mortalidade em relação à concentração do isolado bacteriano testado.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos foram realizados com delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram apresentados em porcentagens de mortalidade (%) e transformados usando a fórmula Arco Seno raiz X e submetidos à análise de variância ANOVA, a fim de avaliar a significância das diferenças observadas entre os tratamentos. Adicionalmente, as médias foram comparadas e analisadas pelo método de algoritmo de Scott & Knott (1974), mediante o uso do programa estatístico SISVAR®.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os índices de mortalidade de *E. heros* obtidos após cinco dias de avaliações dos 125 isolados avaliados variaram entre 0% e 53% nos caldos bacterianos não diluídos.

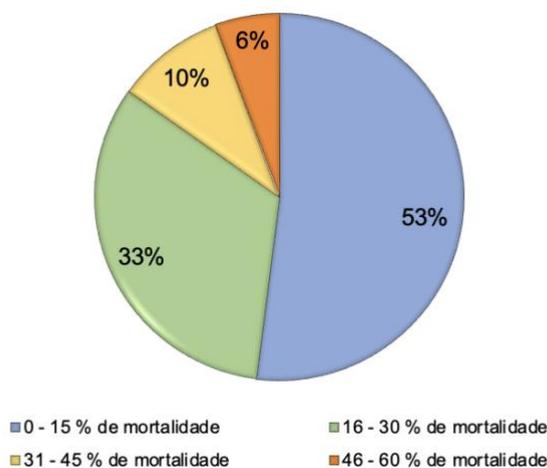


Figura 6. Agrupamento dos isolados testados de acordo com a porcentagem de mortalidade dos percevejos.

Na primeira etapa do screening, em que foi utilizado caldo bacteriano puro, foi possível classificar os isolados de acordo com sua virulência sobre *E. heros*. Dos 125 inóculos testados, 19 deles apresentaram os maiores índices de mortalidade, variando entre 31% e 53%, representando assim 16% do total dos inóculos avaliados. Os outros 106 isolados apresentaram taxas de mortalidade inferiores a 30%.

Tabela 1. Isolados bacterianos com identificação molecular previamente conhecida.

BACTÉRIAS CONHECIDAS CONTRA <i>E. HEROS</i>		
Referência	Bactéria	% mortalidade
CCT 7393	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0%
IBCBA 107	<i>Sacharopolyspora spinosa</i>	0%
UENP04	<i>Photorhabdus</i> sp.	0%
Bt S1450	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	0%
Ab-V5	<i>Azospirillum brasilense</i>	0%
IBCBA 69	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i>	7%
UENP02	<i>Photorhabdus</i> sp.	7%
UENP05	<i>Photorhabdus</i> sp.	7%
PAM11	<i>Xenorhabdus szentirmaii</i>	7%
PAM25	<i>Xenorhabdus szentirmaii</i>	7%
CCT 2487	<i>Bacillus pumilus</i>	7%
CCT 7891	<i>Bacillus velezensis</i>	7%
CORÓ ABG	<i>Photorhabdus</i> sp.	13%
UENP06	<i>Photorhabdus</i> sp.	13%
UEL08	<i>Photorhabdus</i> sp.	13%
AM163	<i>Xenorhabdus doucetiae</i>	13%
ALL	<i>Xenorhabdus nematophila</i>	13%
CCT 4453	<i>Bacillus megaterium</i>	13%
CCT 7690	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	13%
UEL07	<i>Photorhabdus</i> sp.	20%
CBMAI 1120	<i>Bacillus aryabhatai</i>	20%
CBMAI 1092	<i>Chromobacterium subtsugae</i>	27%
IBCB n10	<i>Photorhabdus</i> sp.	27%
IBCB n6	<i>Xenorhabdus</i> sp.	27%
CER144	<i>Xenorhabdus</i> sp.	27%
HB EN01	<i>Photorhabdus luminescens</i>	47%
CCT 0480	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	47%

Dentre as bactérias testadas, 27 foram previamente identificadas conforme na tabela 1. Algumas dessas espécies pertencem ao gênero de *Bacillus*, como *B. subtilis*, que se destacou com a maior taxa de mortalidade observada. Embora existam poucos estudos sobre *B. subtilis* como agente de controle biológico de insetos, uma pesquisa conduzida por ABD EL-SALAM

et al. (2011) demonstrou eficácia de até 100% no controle de *Spodoptera littoralis*, sugerindo seu potencial como agente promissor de controle biológico.

Por outro lado, outras espécies de *Bacillus* apresentaram eficácia inferior a 20% como o caso de *B. amyloliquefaciens* que registrou índice de mortalidade de apenas 13%. Este resultado foi inferior ao obtido por STEFANELLO (2021) que relatou experimentalmente a virulência dessa espécie bacteriana no percevejo *E. heros*, conseguindo uma taxa de mortalidade de 73,3%. Essa grande diferença encontrada nas porcentagens pode estar relacionada às diferentes metodologias realizadas e às estirpes bacterianas utilizadas, as quais podem apresentar variabilidade genética e, portanto, podem afetar a expressão de proteínas e, conseqüentemente, a eficácia do controle.

Ainda sobre o estudo de STEFANELLO (2021), foram testados 24 isolados de *Bacillus thuringiensis* contra o percevejo-marrom, gerando taxas de mortalidade muito variáveis de 23,3% a 100%. Essa variação nas porcentagens obtidas entre os isolados da mesma espécie é comumente observada, como foi relatado por (SOARES-DA-SILVA et al (2015) que avaliaram a toxicidade de 57 isolados de *B. thuringiensis* sobre o díptero *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e encontraram que apenas seis isolados apresentaram atividade inseticida contra essa praga (83,3-100% de mortalidade).

Ainda sobre estudos de eficácia de bactérias contra percevejos, MARTINS et al. (2016) testaram metabólitos das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia* sp. em ninfas de segundo instar do percevejo *E. heros*, obtendo níveis de mortalidade que não ultrapassaram o 53% após 10 dias de aplicação. Já CARVALHO et al. (2020), avaliaram a bactéria Gram-negativa *Chromobacterium subtsugae* e obtiveram índices de mortalidade entre 31 e 40% no teste contra o percevejo-marrom, dados que corroboram com os encontrados no presente trabalho (27% de morte). Resultados diferentes foram evidenciados por MARTINS et al. (2007), que testaram metabólitos de *C. subtsugae* sobre o percevejo *Nezara viridula*, gerando 95% de mortalidade, sugerindo que a ação dessa bactéria pode ser específica para cada espécie.

No presente estudo, os 19 isolados que apresentaram eficiência acima de 31% foram selecionados para serem testados a 10% da concentração.

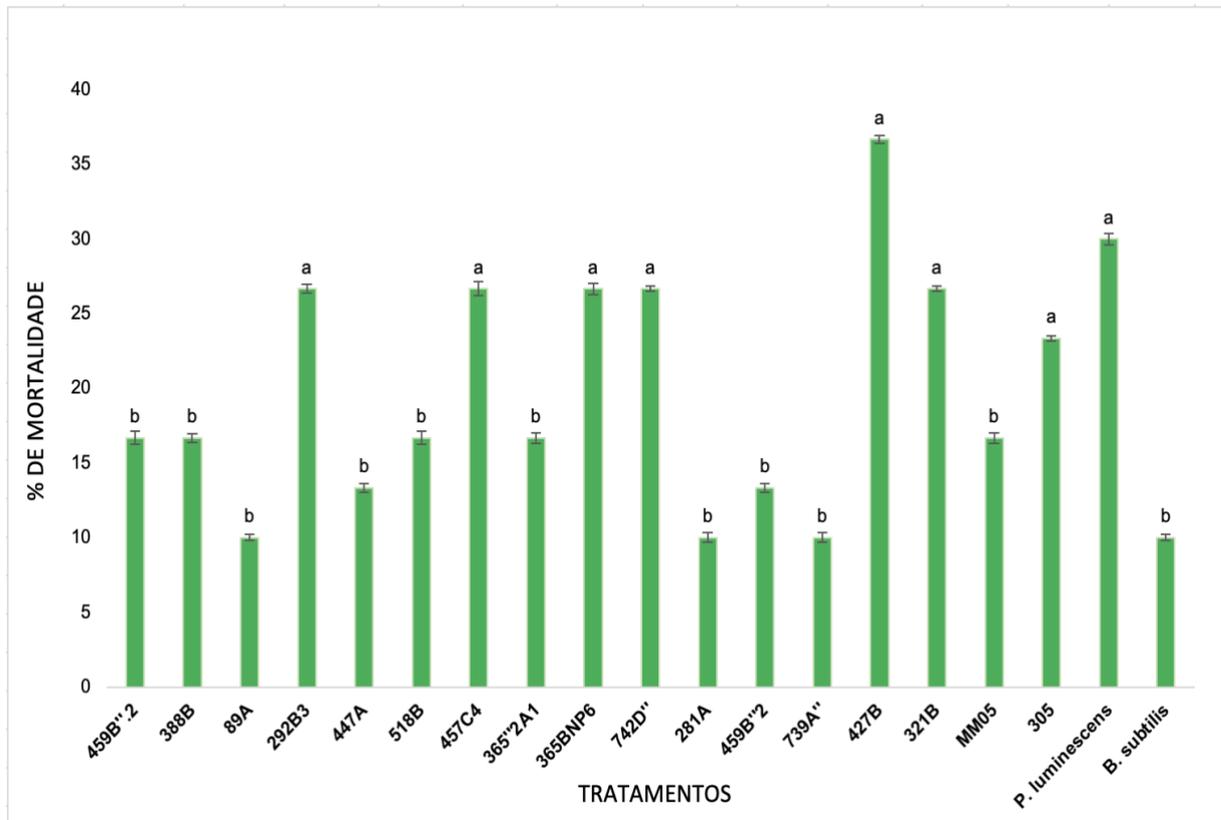


Figura 7. Mortalidade de *E. heros* em exposição aos melhores isolados bacterianos a 10% de concentração. Tratamentos com a mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de SCOTT & KNOTT (0,5%).

Os isolados bacterianos 292B3, 457C4, 365BNP6, 742D'', 427B, 321B e *Photorhabdus luminescens* foram os mais virulentos, com índices de mortalidade dos percevejos variando entre 26,67 % e 36,67 % quando foram testadas as suspensões bacterianas diluídas a 10 % da concentração inicial. Acredita-se que o efeito tóxico desses isolados bacterianos no percevejo-marrom possa ser causado pela invasão das células bacterianas ou pela produção de metabólitos secundários com atividade inseticida.

Dentre os isolados testados encontra-se *P. luminescens*, uma bactéria Gram-negativa com formato de bastonete que produz um pigmento fluorescente. Essa bactéria é exclusivamente encontrada em associação com os nematoides *Heterorhabditis bacteriophora*. (FISCHER-LE SAUX et al, 1999; HAN E EHLERS, 2000). *P. luminescens* é liberada pelos NEPs dentro do inseto e reconhece a presença do aminoácido L-proline na hemolinfa do hospedeiro. Essa interação induz a produção de toxinas, antibióticos e outros metabólitos pela bactéria, os quais acarretam a degradação do hemocele do inseto e impedem a formação de nódulos, resultando em sua morte (DOWDS & PETERS, 2002; KIM et al., 2005; CRAWFORD et al., 2010).

A utilização de *P. luminescens* como agente de controle biológico tem apresentado resultados promissores no controle de diversos insetos. Em uma pesquisa recente, NANZER et al (2021) testaram duas cepas da bactéria simbiote *Photorhabdus luminescens* e sete espécies de *Xenorhabdus* foram testadas contra os percevejos *E. heros* e *Dichelops melacanthus*, verificando que *P. luminescens* foi a segunda melhor bactéria com uma mortalidade de aproximadamente 37 % no percevejo-marrom, resultado semelhante ao encontrado neste estudo, no qual o isolado de *P. luminescens* causou uma mortalidade de 30 % em *E. heros*.

Porém, em um estudo conduzido por MARRERO et al. (2015), *P. luminescens* ocasionou mortalidade total em percevejos da espécie *Piezodorus guildinii* e *Nezara viridula*, resultado que difere dos obtidos em *E. heros*, podendo-se inferir que o percevejo-marrom é mais resistente à ação de *P. luminescens*.

O estudo realizado por WU et al. (2022) mostrou o efeito positivo de *P. luminescens* em outro inseto da ordem Hemiptera. Foram avaliados metabólitos secundários das bactérias *P. luminescens* e *X. bovienii* no controle dos pulgões-pecan (*Acaudaleyrodes quadrivittatus*), apresentando porcentagens de mortalidade que variaram entre 40 e 90 % em diferentes

A partir do sequenciamento do gene ribossomal 16s, verificou-se a máxima similaridade das linhagens 292B3, 427B, 365BNP6 e 321B com as espécies de *Serratia*: *S. marcescens*, *S. nematodiphila* e *S. ureilytica* conforme exibido na tabela 2 e figura 8. Além disso, o sequenciamento do gene rpoD nos isolados 292B3 e 427B, permitiu sua identificação mais próxima com a espécie de *Serratia ureilytica* (CCUG:50595), conforme a Figura 9.

Tabela 2. Sequências do EzBioCloud 16S compatíveis com as cepas 427B, 292B3, 321B e 365BNP6, baseadas na análise BLAST do rRNA 16S.

Isolado	Espécie	Tamanho do fragmento (pb)	Cobertura (%)	Identidade (%)	Nº Acessos EzBioCloud 16S
427B	<i>Serratia nematodiphila</i>	1415	100	99,58	JPUX01000001
	<i>Serratia marcescens</i>	1413	100	99,44	JMPQ01000005
	<i>Serratia ureilytica</i>	1406	99,50	98,94	AJ854062
292B3	<i>Serratia marcescens</i>	1405	100	99,50	JMPQ01000005
	<i>Serratia nematodiphila</i>	1405	100	99,50	JPUX01000001
	<i>Serratia ureilytica</i>	1398	99,50	99,01	AJ854062
321B	<i>Serratia nematodiphila</i>	1410	100	99,58	JPUX01000001
	<i>Serratia marcescens</i>	1408	100	99,44	JMPQ01000005
	<i>Serratia ureilytica</i>	1399	99,50	98,80	AJ854062
365BNP6	<i>Serratia nematodiphila</i>	1417	100	99,58	JPUX01000001
	<i>Serratia marcescens</i>	1416	100	99,44	JMPQ01000005
	<i>Serratia ureilytica</i>	1408	99,50	98,95	AJ854062

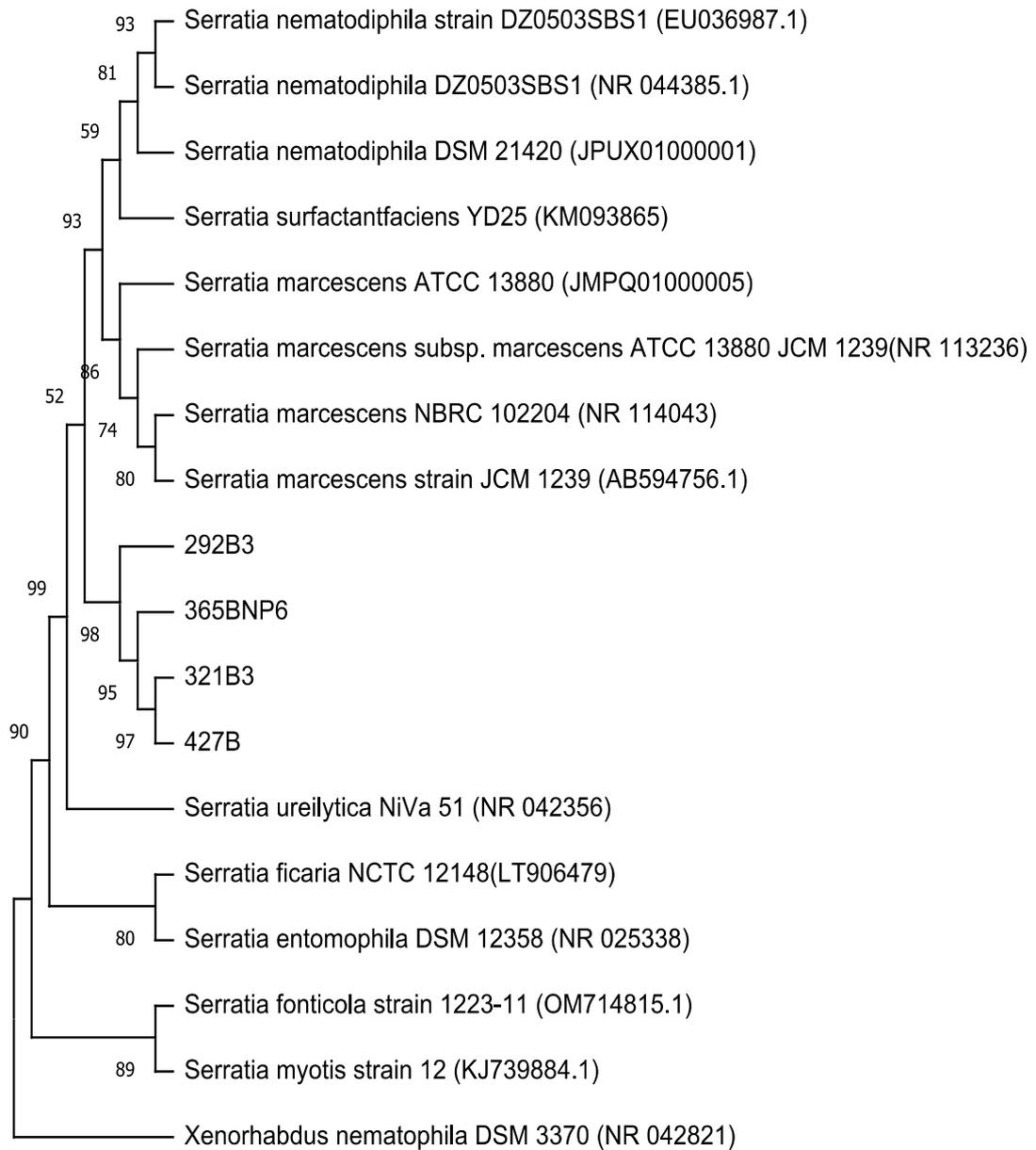


Figura 8. Arvore filogenética dos isolados bacterianos 292B3, 427B, 365BNP6 e 321B, baseada no sequenciamento molecular do gene 16S ribossomal.

Tabela 3. Sequências do Genbank compatíveis com as cepas 427B e 292B3, baseadas na análise do gene rpoD.

Isolado	Espécie	Tamanho do fragmento (pb)	Cobertura (%)	Identidade (%)	Nº Acessos Genbank
427B	<i>Serratia ureilytica</i>	1232	100	98,84	CP091121
	<i>Serratia marcescens</i>	1232	100	98,84	CP018926
	<i>Serratia marcescens</i>	1232	100	98,84	AP028517
292B3	<i>Serratia ureilytica</i>	1293	100	99,44	CP091121
	<i>Serratia marcescens</i>	1293	100	99,44	CP018926
	<i>Serratia marcescens</i>	1293	100	99,44	AP028517

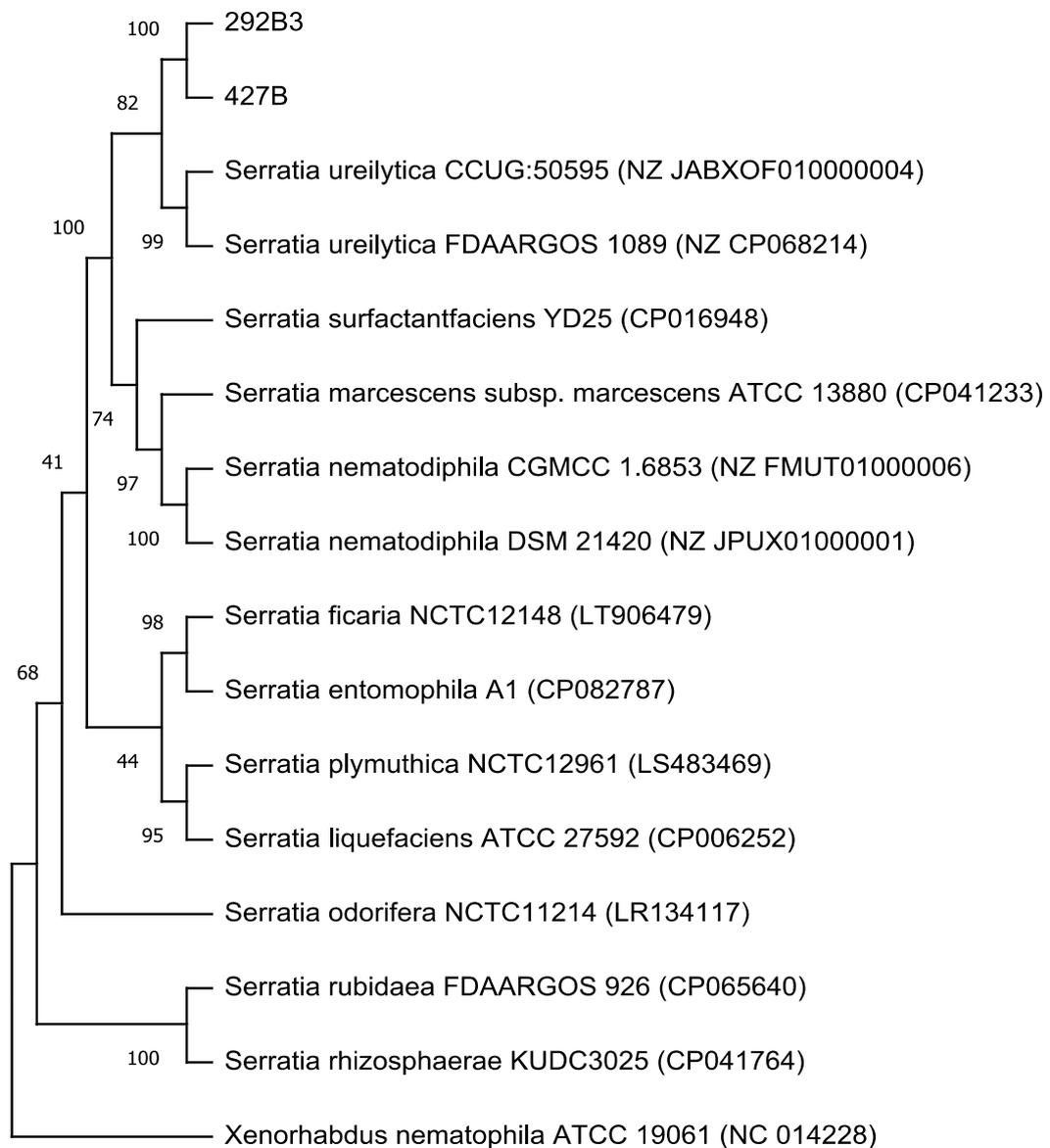


Figura 9. Árvore filogenética dos isolados bacterianos 292B3, 427B, baseada no sequenciamento molecular do gene rpoD.

Tabela 4. Sequências do EzBioCloud 16S compatíveis com as cepas 742D e 457C4, baseadas na análise BLAST do rRNA 16S.

Isolado	Espécie	Tamanho do fragmento (pb)	Cobertura (%)	Identidade (%)	Nº Acessos EzBioCloud 16S
742D	<i>Bacillus toyonensis</i>	1430	100	100	BCT-7112
	<i>Bacillus mobilis</i>	1429	100	99,93	O711P9-1
	<i>Bacillus pacificus</i>	1429	100	99,93	EB422
	<i>Bacillus paramobilis</i>	1428	98,5	99,86	BML-BC017
	<i>Bacillus wiedmannii</i>	1427	100	99,79	FSL W8-0169
	<i>Bacillus hominis</i>	1427	98,5	99,79	BML-BC059
	<i>Bacillus proteolyticus</i>	1426	100	99,72	TD42
	<i>Bacillus albus</i>	1426	100	99,72	N35-10-2
457C4	<i>Bacillus paranthracis</i>	1420	100	100	MACE01000012
	<i>Bacillus nitratreducens</i>	1420	100	99,93	KJ812430
	<i>Bacillus cereus</i>	1419	100	99,86	AE016877
	<i>Bacillus paramycooides</i>	1419	100	99,79	MAOI01000012
	<i>Bacillus tropicus</i>	1419	100	99,79	MACG01000025
	<i>Bacillus anthracis</i>	1419	100	99,72	AE016879
	<i>Bacillus albus</i>	1418	100	99,72	MAOE01000087

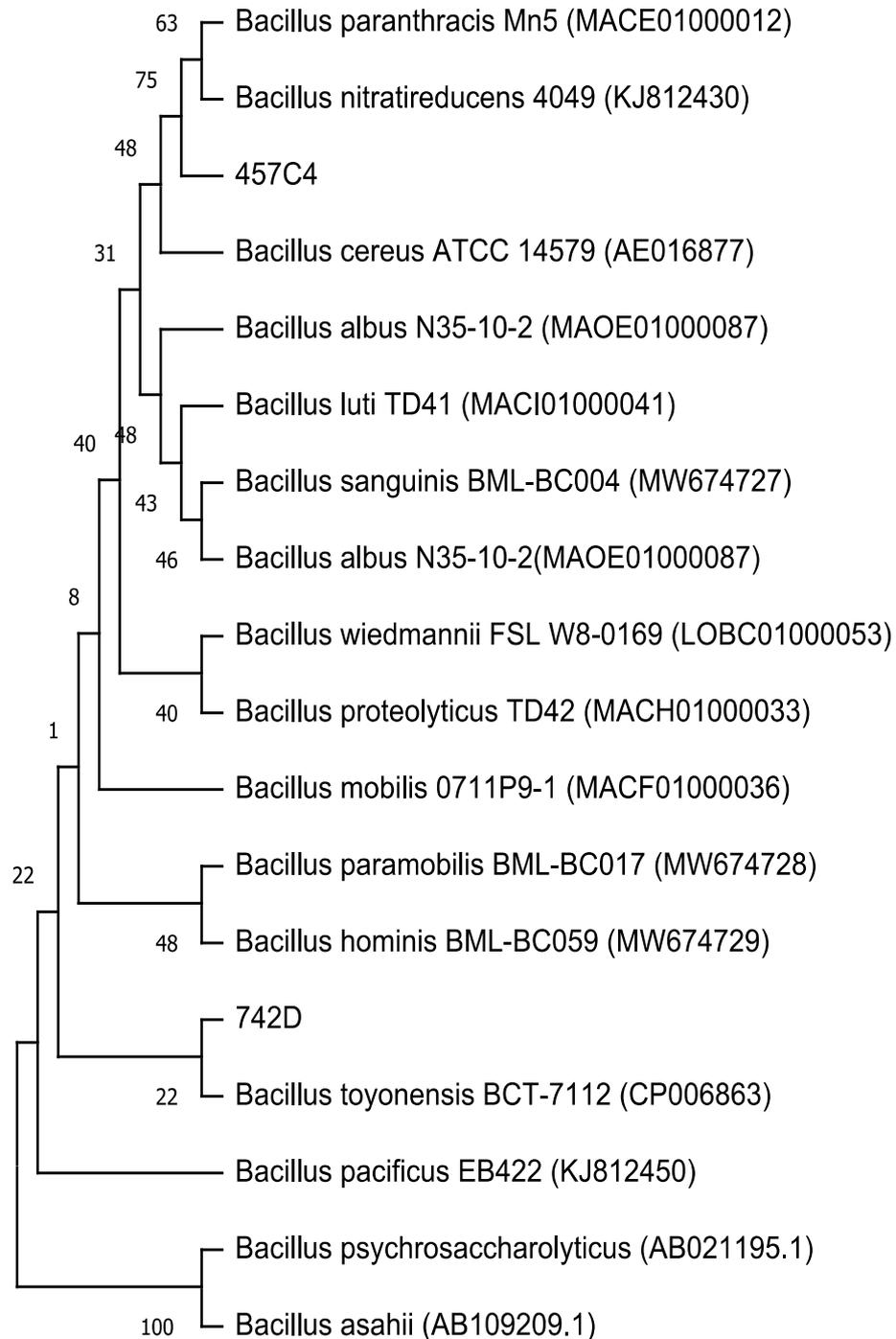


Figura 10. Arvore filogenética dos isolados bacterianos 742D' e 457C4, baseada no sequenciamento molecular do gene 16S ribossomal.

Por outra parte, na análise da linhagem 742D' com o gene ribossomal 16s indicou maior similaridade *B. toyonensis*, *B. mobilis* e *B. pacificus*, enquanto o isolado 457C4 com *Bacillus paranthracis*, *B. nitratireducens* e *B. cereus sensu stricto* como apresentado na tabela 4. A partir

do sequenciamento do gene *gyrB*, foi possível identificar que a bactéria 742D' apresentou maior similaridade com o espécime *B. toyonensis* (BCT-7112) com identidade de 99,51% e a cepa 457C4 com sequências de espécimes tipo *B. cereus* sensu stricto (ATCC 14579) de 99,88% de similitude como evidenciado na figura 11 e tabela 5.

Tabela 5. Sequências do Genbank compatíveis com as cepas 742D e 457C4, baseadas na análise do gene *GyrB*.

Isolado	Espécie	Tamanho do fragmento (pb)	Cobertura (%)	Identidade (%)	Nº Acessos Genbank
742D	<i>Bacillus toyonensis</i>	1480	100	99,51	CP006863
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1397	100	97,66	CP020754
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1397	100	97,66	FR850503
	<i>Bacillus mycooides</i>	1125	100	91,64	CP118958
	<i>Bacillus mycooides</i>	1125	100	91,64	CP009692
	<i>Bacillus cereus</i>	981	100	88,44	CP034551
457C4	<i>Bacillus cereus</i>	1496	100	99,88	CP034551
	<i>Bacillus cereus</i>	1496	100	99,88	FR850502
	<i>Bacillus anthracis</i>	1153	100	92,26	CP076225
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1003	100	88,93	CP021061
	<i>Bacillus mycooides</i>	1003	100	88,93	CP093291

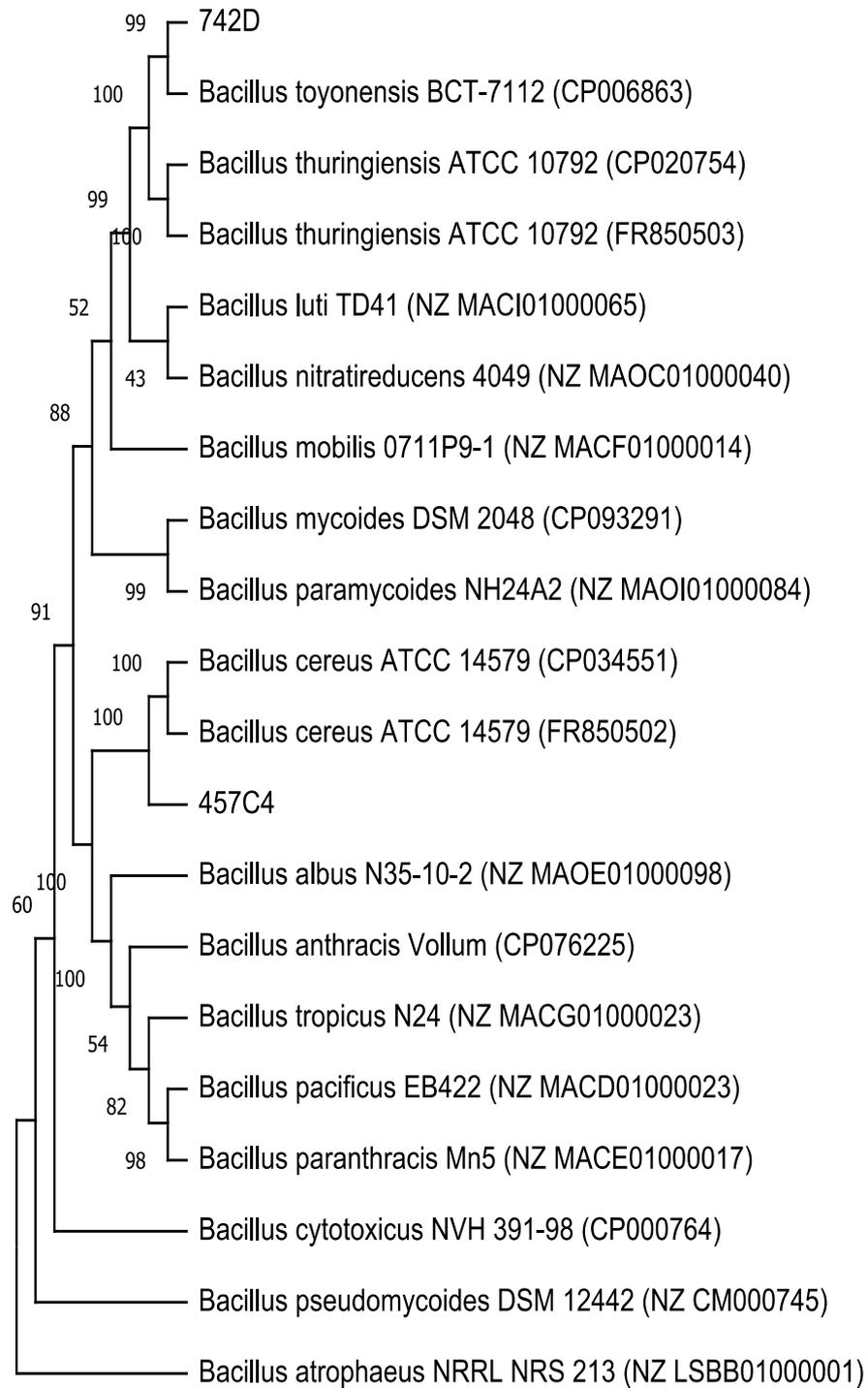


Figura 11. Arvore filogenética dos isolados bacterianos 742D' e 457C4, baseada no sequenciamento molecular do gene *gyrB*.

Posteriormente, foi realizada uma curva de dosagens dos melhores isolados como mostrado na figura 12. Os valores de mortalidade dos percevejos adultos de *E. heros* variaram entre 17 e 47 % nos caldos bacterianos testados em diferentes concentrações.

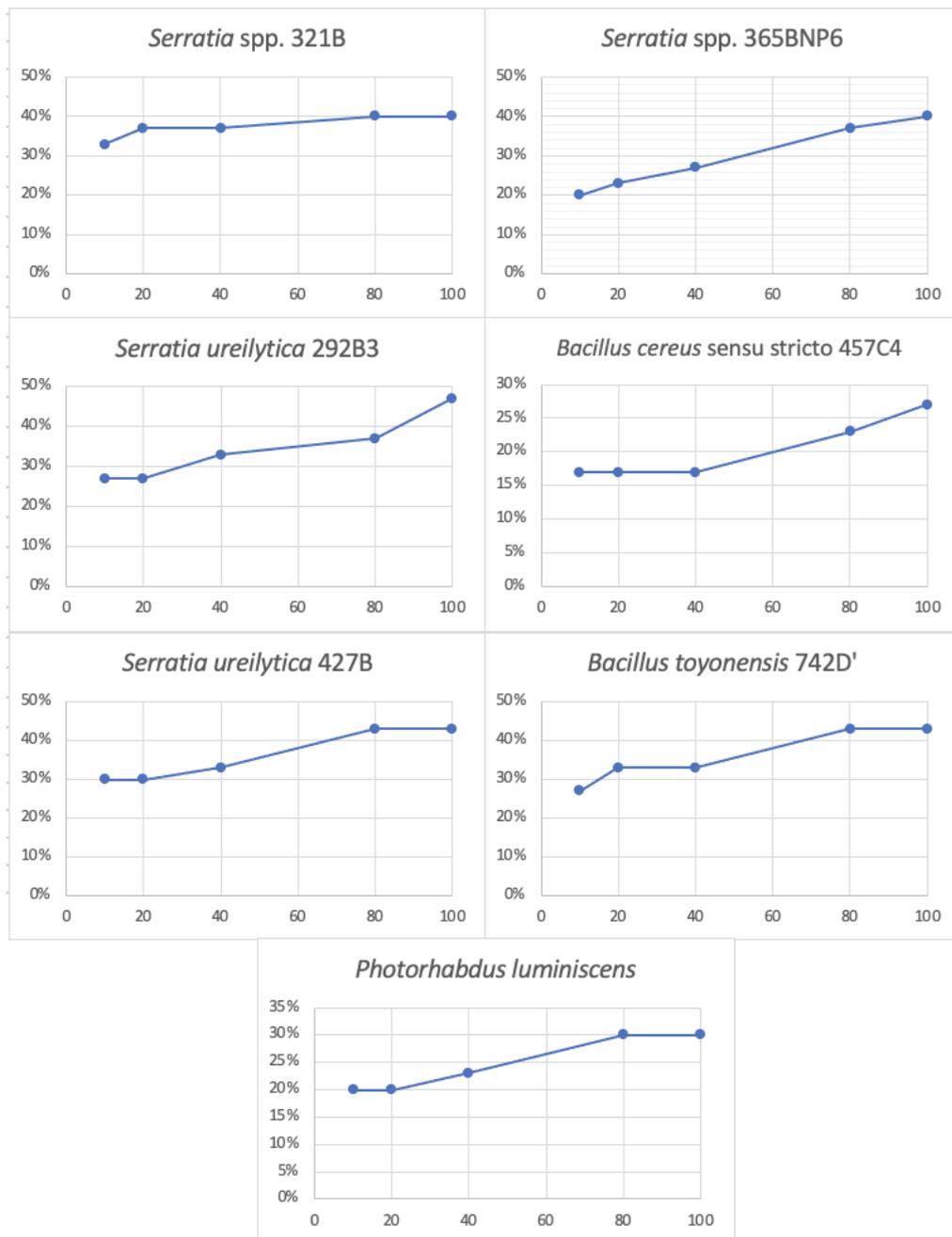


Figura 12. Curva de dosagens de 10, 20, 40, 80 e 100% de concentração dos isolados bacterianos 321B, 365BNP6, 292B3, 457C4, 427B, 742D' e *P. luminiscens*.

Em geral, nas taxas de mortalidade não houve variação significativa entre as diferentes concentrações testadas, indicando que a eficácia na mortalidade dos adultos de *E. heros* não está necessariamente ligada à concentração das bactérias, mas sim ao seu mecanismo de ação, bem como a sua capacidade de colonização e interação com os insetos praga.

Alguns estudos relatam a importância do mecanismo de ação das bactérias no controle de pragas. Dentre esses, LÓPEZ-PÉREZ et al. (2017) fez uma pesquisa de avaliação da eficácia de *B. thuringiensis* no controle da Traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*), verificando que a efetividade do controle não estava relacionada com a concentração da bactéria, mas sim com a sua capacidade de colonizar e de produzir toxinas e metabólitos que causaram a morte dos insetos. Além disso, em outra pesquisa com a bactéria *Pseudomonas chloraphis* para o controle da cigarrinha-marrom (*Nilaparvata lugens*), verificaram que a eficiência de controle estava associada à produção de metabólitos secundários que inibiram o crescimento e desenvolvimento do hemíptera (RAJESHWARI et al., 2017). Adicionalmente, RUIU (2015) sugere que as enzimas e os metabólitos secundários produzidos pelas bactérias são mais importantes no controle e regulação do crescimento populacional das pragas.

No presente estudo, as bactérias *Serratia ureilytica* 292B3, *Serratia ureilytica* 427B e *Bacillus toyonensis* 742D' apresentaram os melhores resultados na curva de dosagens, com porcentagens crescentes de mortalidade, de 27 a 30 % testados a 10 % de concentração, até 43-47 % a 100 % de concentração bacteriana.

Serratia sp. é uma bactéria Gram-negativa da família Enterobacteriaceae, presente em diversos ambientes (GRIMONT & GRIMONT, 2006). Ela apresenta atividade antifúngica, antibacteriana e algumas espécies têm sido utilizadas como agentes de controle biológico (LYSYK et al., 2002). Está naturalmente no solo e pode ser isolada de insetos mortos, produz uma variedade de enzimas e metabólitos que afetam a sobrevivência e a reprodução de insetos, incluindo hemípteras. Entre as espécies de *Serratia*, *S. ureilytica* é considerada espécie de baixo risco e tem a capacidade de degradar ureia como única fonte de nitrogênio, composto que possui atividade antioxidante, sendo uma ferramenta para explorar no controle de diversas pragas (BHADRA et al., 2005; ARIFIYANTO et al., 2021).

Atualmente, estudos de *S. ureilytica* na área de controle biológico são realmente escassos.

Em um estudo conduzido por ABREO et al. (2021), três cepas de *Serratia* sp. foram avaliadas no controle de *Pythium cryptoirregulare*, causadora do tombamento do tomateiro. A cepa identificada como *S. ureilytica* apresentou o maior índice de redução da doença em testes *in vitro* e em plantas em até 68%, indicando grande potencial também para o controle de doenças agrícolas. Em outro estudo, CAO et al. (2023), reportaram que *S. ureilytica* apresenta potencial como agente antagonista e de controle contra a bactéria fitopatogênica *Ralstonia solanacearum*. De maneira semelhante, em outra pesquisa testaram *S. ureilytica* contra o nematoide *Nacobbus aberrans* em plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e verificaram

que a bactéria conseguiu reduzir a penetração do nematoide na planta em até 45%, sete dias após inoculação (WONG-VILLAREAL et al., 2021).

Por outro lado, o grupo *Bacillus cereus* está composto por oito espécies, denominadas *B. anthracis*, *B. cereus* stricto sensu, *B. cytotoxicus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis* e *B. toyonensis*, esta última recentemente incluída (JIMÉNEZ et al., 2013).

B. toyonensis é uma bactéria Gram-positiva, aeróbica e formadora de endósporos, com formato de bastonete que possui compostos antimicrobianos (OKAIYETO et al., 2015). Esses compostos a tornam eficaz no controle de microrganismos fitopatogênicos; além disso, tem atividade promotora de crescimento vegetal e segura para humanos, animais e o meio ambiente, tornando-se uma alternativa promissora no controle biológico de pragas (PÉREZ et al, 2019). No entanto, há poucas pesquisas sobre seu potencial de controle biológico em outras pragas além de microrganismos.

RYUN et al (2018) testaram *B. toyonensis* no controle da bactéria fitopatogênica *Pectobacterium carotovorum*, verificando uma redução 68,9% e 73% na doença de podridão mole em plantios de repolho (*Brassica oleracea*). PANE & ZACCARDELLI (2015) avaliaram a eficiência de 93 isolados de *Bacillus* sp. formadores de esporos, no controle da doença pinta-preta do tomateiro causada por o fungo *Alternaria alternata*, onde *B. toyonensis* foi um dos quatro melhores isolados com potencial de controle do fungo (porcentagens de entre 15-60% de inibição).

Além disso, em um estudo recente realizado por SAUKA et al. (2022), foi avaliada a atividade inseticida dos esporos de *Bacillus toyonensis* biovar *thuringiensis* em diversas espécies de insetos, incluindo *Alphitobius diaperinus*, *Aedes aegypti*, *Anthonomus grandis* e *Cydia pomonella* L. Os resultados mostraram uma taxa de mortalidade de 77,8% e 54,2% nos insetos *A. grandis* e *C. pomonella*, respectivamente. No entanto, são necessários mais estudos que verifiquem o potencial de controle desta bactéria em outras pragas, já que há poucos trabalhos disponíveis sobre o tema.

Em relação aos resultados deste projeto, é possível inferir que as bactérias *Serratia ureilytica* e *Bacillus toyonensis* podem ser úteis como agentes para o controle do percevejo *E. heros*. Porém, há poucos estudos disponíveis sobre a ação dessas bactérias como agentes de controle biológico, sendo que a maioria deles está relacionada apenas ao controle microbiano. Portanto, é necessário realizar mais pesquisas para a descoberta de novos produtos microbiológicos promissores no manejo sustentável do percevejo-marrom e entender melhor

os mecanismos de ação das bactérias no controle dessa praga (SCHÜNEMANN et al., 2014). Com isso, é possível desenvolver estratégias de controle mais eficientes e sustentáveis, reduzindo o uso de produtos químicos e preservando o ambiente.

6 CONCLUSÕES

- Sete isolados foram promissores para exploração como antagonistas de insetos hemípteros;
- Os isolados *S. ureilytica* 427B, *S. ureilytica* 292B3 e *B. toyonensis* 742D' foram os mais virulentos contra *E. heros*;
- São necessários novos estudos para verificar o modo de ação das bactérias contra *E. heros* e a realização de testes em campo para avaliar a eficiência desses agentes em condições reais de cultivo da Soja;
- Bactérias são potenciais agentes de controle biológico em programas de manejo de pragas agrícolas, visto sua fácil multiplicação, aplicação e eficiência, visando a redução do uso de inseticidas e a preservação do meio ambiente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREO, E., VALLE, D., GONZÁLEZ, A., ALTIER, N. Control of damping-off in tomato seedlings exerted by *Serratia* spp. Strains and identification of inhibitory bacterial volatiles *in vitro*. **Systematic and Applied microbiology**, v. 44, n. 2, 2021.
- ABD EL- SALAM, A. M. E., AWAD, NEMAT, A. M., MAGDY, A. Potency of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Bosid.) Larvae. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, n. 3, p. 204-215, 2011.
- ADEMOKOYA, B., ATHEY, K., RUBERSON, J. Natural enemies and biological control of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera) in North America. **Insects**, v. 13, 932, 2022.
- ALVES, E. B. O percevejo marrom da soja. PROMIP, 2020. Disponível em: <https://promip.agr.br/o-percevejo-marrom-da-soja/>. Acesso em outubro de 2022.
- AGROPECISION. A utilização de inimigos naturais como formas assertivas de controlar insetos praga na lavoura. *Agronegócio*, 2018. Disponível em: <https://www.agroprecision.com.br/a-utilizacao-de-inimigos-naturais-como-formas-assertivas-de-controlar-insetos-praga-na-lavoura/>. Acesso em setembro de 2022.
- ARIFYANTO, A., AFRIYANI, H., PUTRI, M. H., DAMAYANTI, B., LUKYTA, C. L. R. The biological prospective of red-pigmented bacteria cultured from contaminated agar media. *Biodiversitas*, v. 22, p. 1152-1159.
- BALAN, M. G., ABI-SAAB, O. J., SILVA, C. G., & RIO, A. Pulverização em alvos artificiais: avaliação com o uso do software conta-gotas (Vol. 35). **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 35, n. 4, p. 916-919, 2005.
- BELO, M. S. da S. P., PIGNATI, W., DORES, E. F. G de C., MOREIRA, J. C., & PERES, F. Uso de agrotóxicos na produção de soja do Estado do Mato Grosso: um estudo preliminar de riscos ocupacionais e ambientais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, p 78-88, 2012.
- BELORTE, L. C., RAMIRO, Z. A. FARIA, A. M. MARINO, C. A. B. Danos causados por percevejos (Hemiptera: pentatomidae) em cinco cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) no município de Araçatuba, SP. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 169-175, 2003.
- BHADRA, B., ROY, P., CHAKRABORTY, R. *Serratia ureylitica* sp. nov., a novel urea-utilizing species. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 55, n. 5, 2005.
- BORGES, M., SCHIMIDT, F.G.V., SUJII, E.R., MEDEIROS, M.A., MORI, K., ZARBIN, P.H.G., FERREIRA, T.B. Field responses of stink bugs to the natural and synthetic pheromone of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, v.23, p. 202-207, 1998.

BOURQUE, S. N., VALÉRO, J. R., MERCIER, J., LAVOIE, M. C., LEVESQUE, R. C. Multiplex polymerase chain reaction for detection and differentiation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p.523-527, 1993.

BRIDI, M. Danos de percevejos pentamídeos (Heteróptera: Pentatomidae) nas culturas de soja e do milho na região com centro-sul do Paraná. Universidade Estadual do Centro Oeste, 2012.

BUENO, A. F., BATISTELA, M. J., BUENO, R. O., FRANÇA-NETO, J. B., NISHIKAWA, M. A., & LIBÉRIO FILHO, A. L. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Lincoln: Crop Protection**, v. 30, 2011.

BUENO, A. de F, VACARI, A. M., AUAD, A. M., dos SANTOS, A. F., PEIXOTO, A. R., FAVETTI, B. M., . . . GARRID. Aquecimento global e problemas fitossanitários. Embrapa Meio Ambiente: Brasília, SP, p. 317, 2017.

BUENO, V. H., LINS, J. C., JUNIOR, A. M., & da SILVEIRA, L. C. *Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável*. Era Ambiental, 2020. Disponível em: <https://www.erambiental.com.br/var/userfiles/arquivos69/documentos/12657/ControleBioManejoPragasNaAgrSustentavel.pdf>. Acesso em outubro de 2022.

BURNELL, A. STOCK, S. P. *Heterorhabditis, Steinernema* and their bacterial symbionts – lethal pathogens of insects, *Nematology*, v. 2, n. 1, p .31-42, 2000.

CARVALHO, W. R.; FAVORITO, A. C.; FRANCO, J. A, S.; PIETROWSKI, V. Eficiência de *Chromobacterium subtsugae* no controle do percevejo-marrom *Euschistus heros* (F. 1798) (Heteroptera: Pentatomidae). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2020.

CAVALCANTI, L., AGUIAR, A., LIMA, J. & LIMA, A. Intoxicação por Organofosforados: Tratamento e Metodologias Analíticas Empregadas na Avaliação da Reativação e Inibição da Acetilcolinesterase. **Rev. Virtual Qui**, 8(3), p. 739-766, 2016.

CATOIA, B. Desenvolvimento de *Euschistus heros* FABRICIUS (Hemíptera: Pentatomidae) em hospedeiros alternativos e caracterização da injúria e estresse em plantas de milho (*Zea mays* L.). Botucatu: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2019.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Londrina: Embrapa/CNPSo, p. 40, 1993.

CORRÊA-FERREIRA, B. S., NUNES, M. L., & UGUCCIONI, L. D. Ocorrência do parasitoide *Hexacladia smithii* Ashmead em adultos de *Euschistus heros* (F.) no Brasil. **Sociedade Entomológica do Brasil**: Londrina, Embrapa Soja, v. 27, 1998.

CORRÊA-FERREIRA, B. S., & PANIZZI, A. R. Percevejos da soja e seu manejo. Londrina: **Embrapa Soja**. (Circular Técnica, 24), 1999.

CORRÊA-FERREIRA , B. S., KRZYZANOWSKI, F. C., & MINAMI, C. A. Percevejos e a qualidade da semente de soja - Série Sementes. Londrina: **Embrapa Soja**, 15, 2009.

CORRÊA-FERREIRA, B. S., ALEXANDRE, T. M., PELLIZARO, E. C., MOSCARDI, F., & BUENO, A. F. Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura. Londrina: **Embrapa**, 2010.

CRAWFORD, J. M., KONTNIK, R., CLARDY, J. Regulating alternative lifestyles in entomopathogenic bacteria. *Current Biology*, v. 20, n. 1, p. 69-74, 2010.

CUTHBERTSON, A. G. S., HEAD, J., WALTERS, K. F. A., GREGORY, S. A. The efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against the immature stages of *Bemisia tabaci*. *Journal of invertebrate pathology*, v. 83, p. 267-9, 2003.

DE FREITAS BUENO, A. et al. Release of the egg parasitoid *Telenomus podisi* to manage the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros*, in soybean production. **Crop Protection**, v. 137, p. 105310, nov. 2020.

DE-JUN, H., ZHEN-HUAN, G., QIAN, Z., et al. Advance of entomopathogenic nematodes. **Journal of Forestry Research**, v. 12, p. 257-262, 2001.

DETOMASI, M. A. Manejo de percevejo na soja: importancia da praga. **BioGenese**. Sao Paulo-SP, 2015.

DOWDS, B. C. A., PETERS, A. Virulence mechanisms. In: GAUGLER, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Oxon, UK, p. 79-98, 2002.

EHLERS, R. U., STOESSEL, S. WYSS, U. The influence of phase variants of *Xenorhabdus* spp and *Escherichia coli* (Enterobacteriaceae) on the propagation of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *Rev. Nematol*, v. 13, p. 417-424, 1990.

FEOFILOVA, E. P. The fungal cell wall: Modern concepts of its composition and biological function. **Microbiology**, v. 79, n. 6, p. 711–720, dez. 2010.

FERREIRA, S. B. Interações socioeconômicas no sistema soja e prejuízos causados por *Euschistus heros* (Hemíptera: Pentatomidae). Instituto Federal de Educação, Ciência e tecnologia Goiano Campus Rio Verde. Dissertação de mestrado. Rio Verde, GO, 2013.

FIRA, D. et al. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 44–55, nov. 2018.

FISCHER-LE SAUX, M., VIALARD, V., BRUNEL, B., NORMAND, P., DOEMARE, N. E. Polyphasic classification of the genus *Photorhabdus* and proposal of new taxa: *P. luminescens* subsp. *luminescens* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *akhurstii* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *laumondii* subsp. nov., *P. temperata* sp. nov., *P. temperata* subsp. *temperata* subsp. nov. and *P. asymbiotica* sp. nov. **Int J Syst Bacteriol.**, p. 1645-56, 1999.

FISCHER, T. D. Avaliação do inseticida biológico (*Bacillus thuringiensis*) no manejo de pragas em cultivares de soja (*Glycine max* L.) modificadas geneticamente. Rio Grande do Sul, 2014.

FRANCE; A. Uso de nemátodos entomopatógenos para el control de insectos. Quillota: INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias, n. 260, 2013. Disponível em:

<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/7583/NR38793.pdf?sequence=8&isAllowed=y>. Acesso em março de 2023.

FREITAS, M. C. M. A cultura da soja no brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v.7, n.12, p. 1-10, 2011.

GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA, S., CARVALHO, R., BAPTISTA, G., BERTI, E., . . . OMOTO, C. **Entomologia agrícola**, Piracicaba: FEALQ, 2002.

GAZZONI D L. EFEITO DE POPULAÇÕES DE PERCEVEJOS NA PRODUTIVIDADE, QUALIDADE DA SEMENTE E CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA SOJA. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1229–1237, 1998.

GRAZIA, J., CAVICHIOLI, R. R., WOLF, R. R., FERNANDES, J. A., & TAKITA, D. M. Hemiptera. Linnaeus, 1758. *In: Os insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. RAFAEL, J. A.,

GODOY, K. B., ÁVILA, C. J., DUARTE, M. M., & ARCE, C. C. (2010). Parasitismo e sítios de diapausa de adultos do percevejo marrom, *Euschistus heros* na região da Grande Dourados, MS. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.40, n.5, p. 1199-1202, 2010.

GONÇALVES BALAN, M. et al. Pulverização em alvos artificiais: avaliação com o uso do software conta-gotas Spraying on artificial targets: evaluation with conta-gotas software. **Ciência Rural**, v.35, n.4, 2005.

GRIMONT, F., GRIMONT, P. A. D. The genus *Serratia*. **Prokaryotes**, v. 6, p.219-244, 2006.

GULLAN, P. J., & CRANSTON, P. S. Os insetos: um resumo de entomologia. Roca, Sao Paulo, p. 456, 2007.

HAN, R. C., EHLERS, R. U. Pathogenicity, development and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 75, p. 55-58, 2000.

HARTERREITEN-SOUZA, E. S. Diversidade, abundância e bionomia de moscas predadoras (Díptera: Dolichopodidae) em propriedades produtoras de hortaliças em sistemas de base ecológica. Universidade de Brasília. Tese de doutorado. Brasília, DF, 2017.

HOFFMANN-CAMPO, C. B., et al. Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado. Londrina: **Embrapa Soja**, p. 70. (Circular Técnica, 30), 2000.

KIM, Y., JI, D., CHO, S., PARK, Y. Two groups of entomopathogenic bacteria, *Photorhabdus* against phospholipase A2 to induce host immunodepression. *J. Invertebr Pathol.*, v. 89, n. 3, p. 258-64, 2005.

KRINSKI, D., et al. Oviposition preference of the neotropical brown stink bug *Euschistus heros* on artificial substrates of different colors. **Ciência Rural**, v. 43, n. 12, p. 2185–2190, 2013.

LEITE, L. G. Tecnologia sustentável. Nematoides contra insetos. Instituto Biológico, 2013. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/pdf/tecnologia_sustentavel/nematoides.pdf. Acesso em março de 2023.

LYSYK, T.J., KALISCHUK-TYMENSEN, L.D., SELINGER, L. B. Comparison of selected growth media for culturing *Serratia marcescens*, *Aeromonas sp.*, and *Pseudomonas aeruginosa* as pathogens of adult *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). **J. Med. Entomol.**, v. 39, p.89-98, 2002.

MAHAR, A. N., JAN, N. D., MAHART, G. M. MAHART, A. Q. Control of Insects with Entomopathogenic Bacterium *Xenorhabdus nematophila* and its Toxic Secretions. **Int. J. Agri. Biol.**, v. 10, p. 52-56, 2008.

MARRERO, L., SUÁREZ, Y., O'RELLY, J., FERNÁNDEZ, M., ACOSTA, J., TORREN, J. Patogenicidad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) sobre las chinches de la soya *Piezodorus guildinii* West y *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Fitosanidad**, v. 19, n. 3, p. 227-232.

MARTINS, M. R.; ROGGIA, S; OLVEIRA JÚNIOR, A. G.; ANDRADE, G. F.; SILVA, C. S.; SITTA, R. Susceptibilidade do percevejo *Euschistus heros* a extratos bacterianos. **Embrapa Soja: XI Jornada Acadêmica**, 2016.

MELO, G. A. R., CARVALHO, C. J., CASARI, S. a., CONSTANTINO, R (Ed.). Ribeirão Preto: **Holos Editora**, p. 347-405, 2012.

MOURÃO, A. P. Influência do fotoperíodo na indução da diapausa do percevejo marrom, *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1999.

MORAES, M. C. B. et al. The chemical volatiles (Semiochemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 5, p. 489–505, out. 2008.

NANZER, S. L. L., RECCHIA, G. H., OROZCO, J. G. C., ABE SILVA, R. S., CARDOSO, J. F. M., LEITE, L. G. Assessment of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria to control the stink bugs *Euschistus heros* and *Dichelops melacanthus* (Heteroptera: Pentatomidae) in the soybean-corn succession system. **Turk J Zool.**, v. 45, p. 2104-53, 2021.

NAVA, D. E. Controle biológico de insetos-praga em frutíferas de clima temperado: uma opção viável, mas desafiadora. **Embrapa: documentos 208**. Pelotas, RS, 2007. Disponível em <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/745858/1/documento208.pdf>. Acesso em Outubro de 2022.

NUSAIBAH, S. L.; MUSA, H. A Review Report on the Mechanism of *Trichoderma* spp. as Biological Control Agent of the Basal Stem Rot (BSR) Disease of *Elaeis guineensis*. Em: *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*. IntechOpen, 2019.

- PANIZZI, A. R., BUENO, A. de F., SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. *In: HOFFMANN-CAMPO, C. B., CORRÊA-FERREIRA, B. S., MOSCARDI, F. (Ed.). Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga.* Brasília, p. 335-420, 2012.
- PANIZZI, A. R. Growing Problems with Stink Bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): Species Invasive to the U.S. and Potential Neotropical Invaders. **American Entomologist**, v. 61, n. 4, p. 223–233, 8 dez. 2015.
- PEREIRA, P. R. V. da S, & SALVADORI, J. R. (2008). Aspectos populacionais de percevejos fitófagos ocorrendo na cultura da soja (Hemiptera: Pentatomidae) em duas áreas do norte do rio Grande do Sul. Passo Fundo: **Embrapa Trigo**, p. 10, 2008.
- PETERS, A., EHLERS, R. U. Encapsulation of the entomopathogenic nematode *Steinernma feltiae* in *Tipula oleracea*. **J. Invertebr. Pathol**, v. 69, 218-222, 1997.
- PINTO, A. de S., PARRA, J. R. P., OLIVEIRA, H. N. de. Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo. Ribeirão Preto: A. S. Pinto ed., p. 108, 2004.
- PICANCO, M. C. *Manejo Integrado de Pragas*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2010.
- POVEDA, J. Trichoderma as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. **Biological Control**, v. 159, p. 104634, ago. 2021.
- POZEBON, H., & ARNEMANN, J. A. Como funcionam os inseticidas piretroídes e DDTs?. Portal Mais Soja, 2021. Disponível em: <https://maissoja.com.br/como-funcionam-os-inseticidas-piretroides-e-ddts/>. Acesso em setembro de 2022.
- RAJESHWARI, R., NINGAPPA, M. B., SHIVANNA, M. B., NANDIHALLI, B. S. Biocontrol potential of *Pseudomonas chlororaphis* against rice brown planthopper. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 4, p. 1239-1242, 2017.
- RIBEIRO, F. C., ROCHA, F. S., ERASMO, E. A., MATOS, E. P., & COSTA, S. J. (2016). Manejo com inseticidas visando o controle de percevejo marrom na soja intacta. **Revista de Agricultura Neotropical**: Cassilândia, v. 3, p. 48-53, set 2016.
- ROGGIA, R. C. Distribuição espacial e temporal de percevejos da soja e comportamento de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera: Pentatomidae) na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) ao longo do dia. Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, 2009.
- RUIU, L. Insect pathogenic bacteria in integrated pest management. **Insects**, v. 6, p.352-367, 2015.
- SAVIO, G. M., PINOTTI, E. B. Controle biológico da lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*) por Baculovirus anticarsia. **Rev. Científica eletrônica de agronomia**, n 13, 2008.
- SCHMITZ, A., RIESNER, D. Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. **Analytical Biochemistry**, v. 354, p. 311-313, 2006.

SCHÜNEMANN, R.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Mode of Action and Specificity of *Bacillus thuringiensis* Toxins in the Control of Caterpillars and Stink Bugs in Soybean Culture. **ISRN Microbiology**, v. 2014, p. 1–12, jan. 2014.

SCOPEL, W. Danos do percevejo marrom *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) em soja. Universidade de Passo Fundo. Dissertação de mestrado, 2012.

SMITS, P. H. Insect Pathogens: their suitability as biopesticides in Microbial Insecticides: Novelty or Necessity. Presented BCPC Symposium Proceedings Number. UK, v. 68, p.26-28, 1997.

SILVA, M. C. et al. *Bacillus thuringiensis* isolates from northeastern Brazil and their activities against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 5, p. 583–599, maio 2012.

SILVA, M. S. O., LEITE, L. G. *Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* e *Leucothyreus sp.* na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça. Dissertação, IB, 2020.

SILVA, V. P. DA et al. Monitoramento do percevejo marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) por feromônio sexual em lavoura de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 11, p. 844–852, nov. 2014.

SMANIOTTO, L. F.; PANIZZI, A. R. Interactions of Selected Species of Stink Bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from Leguminous Crops with Plants in the Neotropics. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 7–17, mar. 2015.

SOARES, D., SANTOS, P. H., AGUIAR, R., de MOURA, S., & BEZERRA, A. Aspectos morfológicos diferenciais entre as formas do aparelho bucal da Ordem Hemiptera (Heteroptera). JEPEX. XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2013.

SOARES-DA-SILVA, J. et al. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the state of Amazonas, in Brazil, and screening against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **J. Brasileiro de Entomologia**, v. 59, n. 1, p. 1–6, 2015.

SOMEYA, N., KATAOKA, N., KOMAGATA, T., HIRAYAE, K., HIBI, T., AKUTSU, K. Biological control of Cyclamen soilborne diseases by *Serratia marcescens* strain B2. **J. Plant Dis**, v. 84, p.334-340, 2000.

SOMEYA, N., NAKAJIMA, K., WATANABE, T., HIBI, T., KATSUMI, A. Potencial of *Serratia marcescens* strain B2 for biological control of rice sheat blight. **Biocontrol Sci. Technol**, v. 15, p.105-109, 2005.

SOSA-GÓMEZ, D. R., CORSO, I. C., & MORALES, L. Inseticide resistance to endosulfan, monocerotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v.30, p. 317-320, 2001.

- SOSA-GÓMEZ, D. R., & SILVA, J. J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 7, p. 767-769, 2010.
- STEFANELLO, A. M. Seleção de estirpes de *Bacillus* spp tóxicas a *Euschistus heros* (Fabricius, 1798). Universidade de Brasília. Dissertação de mestrado, 2021.
- STÜRMER, G. R. et al. Eficiência do pano-de-batida na amostragem de insetos-praga de soja em diferentes espaçamentos entre linhas e cultivares. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1177, jun. 2014.
- SOUZA, L. A. et al. Spatial Distribution of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) in Soybean. **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 4, p. 412–418, ago. 2013.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A., KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p.2725-2729, 2013.
- TASCA, S. Biofábrica de criação massal de *Trissolcus basalis* e *Telemonus podisi* para o controle biológico de *Euschistus heros* na cultura da soja. Palotina - PR: Universidade Federal do Paraná, 2013.
- TRIUNFO. Percevejo pode provocar perda de até 30% na cultura da soja. Triunfo sementes, 2021. Disponível em <https://triunfosementes.com.br/2020/03/20/percevejo-pode-provocar-perda-de-ate-30-na-cultura-da-soja/>. Acesso em outubro de 2022.
- TUDI, M. et al. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 3, p. 1112, jan. 2021.
- TYŚKIEWICZ, R. et al. Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2329, fev. 2022.
- VACARI, A. M. et al. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. **Bragantia**, v. 71, n. 3, p. 355–361, out. 2012.
- VALTIERRA-DE-LUIS, D. et al. Potential for *Bacillus thuringiensis* and Other Bacterial Toxins as Biological Control Agents to Combat Dipteran Pests of Medical and Agronomic Importance. **Toxins MDPI**, dez. 2020.
- VILLAMIZAR, L., CUARTAS, P., GÓMEZ, J., BARRERA, G. P., ESPINEL, C., LOPEZ-FERBER, M. Virus entomopatogénos en el control biológico de insectos. Capítulo 7. Ed. Agrosavia, 2009.
- WEISBURG, W. G., BARNS, S. M., PELLETIER, D. A., LANE, D. J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol*, v. 173, p.697-703, 1991.

WELLMAN-DESBIENS, É.; CÔTÉ, J.-C. Screening of the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Strains Against *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) Nymphal Population. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 2, p. 251–258, 1 abr. 2004.

WONG-VILLAREAL, A. et al. Nematicidal Activity of the Endophyte *Serratia ureilytica* against *Nacobbus aberrans* in Chili Plants (*Capsicum annuum L.*) and Identification of Genes Related to Biological Control. *Plants (Basel)*, v. 10, n. 12, p. 2655, 2021.

WU, S., TOEWS, M. D., COTTRELL, T. D. SCHMIDT, J. M., SHAPIRO-ILAN, D. I. Toxicity of *Photorhabdus luminescens* and *Xenorhabdus bovienii* bacterial metabolites to pecan aphids (Hemiptera: Aphididae) and the lady beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) *J Invert Path*, v. 194, 2022.

ZAREI, M., AMINZADEH, S., ZOLGHARNEIN, H., SAFAHIEH, A., DALIRI, M., NOGHABI, K. A., GHOROGUI, A., MOTALLEBI, A. Characterization of a chitinase with antifungal activity from a native *Serratia marcescens* B4A. **Braz J. Microbiol**, v. 42, p.1017-29, 2011.