



ARTHUR ALVES FERREIRA ROSA

**POTENCIAL DO USO DE METABÓLITOS BACTERIANOS
COMO BIOPESTICIDAS NO CONTROLE DE PERCEVEJO
MARROM**

**LAVRAS - MG
2024**

ARTHUR ALVES FERREIRA ROSA

**POTENCIAL DO USO DE METABÓLITOS BACTERIANOS COMO
BIOPESTICIDAS NO CONTROLE DE PERCEVEJO MARROM**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

Profa. Dra. Rosangela Cristina Marucci
Orientadora

Ms. Ana Luisa Rodrigues Silva
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2024**

ARTHUR ALVES FERREIRA ROSA

**POTENCIAL DO USO DE METABÓLITOS BACTERIANOS COMO
BIOPESTICIDAS NO CONTROLE DE PERCEVEJO MARROM**

**POTENTIAL USE OF BACTERIAL METABOLITES AS BIOPESTICIDES FOR
THE CONTROL OF BROWN STINK BUG**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 13 de dezembro de 2024.

Msc. Luciano de Souza
Dra. Joanina Gladenucci

UFLA
UFLA

Profa. Dra. Rosangela Cristina Marucci
Orientadora

Ms. Ana Luisa Rodrigues Silva
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2024**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me guiar e abençoar até aqui. Agradeço aos meus pais, Carlos e Helen, por me apoiarem durante toda a minha jornada, por nunca medirem esforços para que eu pudesse realizar meus sonhos e por todo o suporte dado até aqui. Ao meu irmão Pedro Henrique, meu fiel escudo, pelo companheirismo ao qual me acompanhou por todas as histórias sendo meu ombro amigo e incentivador. A Laura, minha namorada, por sua sabedoria que me ajudou desde o início e deixou o caminho mais leve.

Agradeço à minha professora e orientadora Rosangela pelo apoio, oportunidade, orientação e inspiração que me fortaleceram e guiaram durante o desenvolvimento de todo o trabalho. Agradeço a doutoranda e coorientadora Ana Luisa, pela oportunidade, confiança, conhecimento e paciência que foram imprescindíveis para a condução do trabalho. Muito obrigado pela oportunidade de ter trabalhado com duas profissionais tão dedicadas e inspiradoras como vocês. Para finalizar, gostaria de agradecer a todos amigos(as) que estiveram presentes durante a minha trajetória.

Obrigado a todos!

RESUMO

O uso de bioinsumos na agricultura é uma estratégia sustentável e eficaz para o manejo de pragas, contribuindo para a redução do uso de inseticidas químicos e do impacto ambiental. Um exemplo é a utilização de bioinseticidas, como os à base de metabólitos bacterianos, que possuem enzimas como quitinases e proteases, que atuam na degradação da cutícula de insetos. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de metabólitos bacterianos, originados de processos de fermentação, aplicados topicamente em estágios imaturos do percevejo *Euschistus heros*, uma praga de grande impacto econômico no Brasil. A pesquisa utilizou o bioinsumo Soil-Set® na dose comercial e desnaturado, além de água destilada como controle. A metodologia envolveu a imersão de ninfas de *E. heros* em soluções dos tratamentos testados, com avaliações diárias de mortalidade e mudança de instar para determinar tanto efeitos letais quanto subletais (avaliação da ecdise). Além disso, foi avaliada a taxa de eclosão de ovos tratados para análise da atividade ovicida dos metabólitos. Os resultados indicaram que, isoladamente, os metabólitos bacterianos não apresentam efeito inseticida significativo sobre as ninfas e ovos de *E. heros*, embora as ninfas de 1º e 2º instares

tenham mostrado maior mortalidade, possivelmente devido à sensibilidade natural dos estágios iniciais. Os metabólitos provenientes do produto Soil-Set®, isoladamente, não possuem atividade inseticida significativa sobre ninfas e ovos de *E. heros*, não afetando mortalidade, mudança de instar ou eclosão de ovos.

Palavras-chave: *Euschistus heros*; Bioinsumos; Controle biológico; Fermentação.

ABSTRACT

Using bio inputs in agriculture is a sustainable and effective alternative for pest management, helping to reduce the use of chemical insecticides and environmental impacts. One example is bioinsecticides, based on bacterial metabolites that produce enzymes such as chitinase and protease, which degrade insects' cuticles. This study aimed to evaluate the effectiveness of bacterial metabolites originating from fermentation processes, applied topically to immature stages of the stink bug *Euschistus heros*, a pest with a significant economic impact in Brazil. The experiment used Soil-Set® bio input, boiled Soil-Set®, and control with distilled water. The methodology involved immersing *E. heros* nymphs in solutions of the tested products, with daily evaluations of mortality and instar change to determine both lethal and sublethal effects (evaluation of ecdysis). In addition, the hatching rate of treated eggs was assessed to analyze the ovicidal activity of the metabolites. The results indicated that, in isolation, the bacterial metabolites had no significant insecticidal effect on the nymphs and eggs of *E. heros*. However, the 1st and 2nd instar nymphs showed more significant mortality, possibly due to the natural sensitivity of the early stages. The metabolites from the Soil-Set® product alone have no significant insecticidal activity on *E. heros* nymphs and eggs, and do not affect mortality, instar change or egg hatching.

Keywords: Bio inputs; Biological control; *Euschistus heros*; Fermentation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2.1	Insetos.....	9
2.2	Tegumento de insetos.....	11
2.3	Atuação de enzimas sobre insetos.....	12
2.4	<i>Euschistus heros</i>.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5	CONCLUSÃO.....	27
	REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) é uma das principais pragas agrícolas no Brasil, afetando economicamente importantes culturas ao longo de todo sistema de produção. Este inseto-praga causa danos significativos, o que representa um desafio econômico e logístico para o setor agrícola (Tibola *et al.*, 2021).

Tradicionalmente, o controle de *E. heros* tem sido realizado com o uso de inseticidas químicos, como os neonicotinoides. No entanto, o uso intensivo desses produtos tem gerado problemas de resistência em populações de percevejos e impactos negativos para o meio ambiente, incluindo a mortalidade de insetos polinizadores essenciais, como as abelhas (Tibola *et al.*, 2021; Shareefdeen; Elkamel, 2024).

Diante desses desafios, o uso de controle biológico surge como uma alternativa promissora, alinhando-se aos objetivos da Agenda 2030 da ONU para a sustentabilidade, que incentiva a adoção de práticas agrícolas mais responsáveis e menos dependentes de produtos químicos convencionais. O controle biológico, por meio de organismos vivos e metabólitos bacterianos ou fúngicos, oferece uma abordagem mais segura e específica para o manejo de pragas, minimizando os riscos ecológicos e contribuindo para a preservação da biodiversidade (Omkar, 2016; Zhang *et al.*, 2017; Rodríguez-Romero *et al.*, 2023).

Neste contexto, os metabólitos bacterianos, apresentam-se como uma potencial ferramenta no controle biológico de pragas. Tais metabólitos, como os produzidos por *Lactobacillus acidophilus*, podem conter enzimas como quitinase, protease e lipase (El-Sayed *et al.*, 2022), que atuam degradando componentes da cutícula de insetos, comprometendo sua integridade e aumentando sua vulnerabilidade (Paschapur *et al.*, 2021). A aplicação tópica desses metabólitos pode, portanto, representar uma estratégia inovadora e sustentável para o controle de estágios imaturos e ovos de pragas agrícolas, auxiliando na redução da dependência de inseticidas químicos.

Este estudo visa avaliar o efeito de metabólitos bacterianos, resultantes de fermentação, aplicados diretamente em estágios imaturos do percevejo *E. heros*. A hipótese é que esses metabólitos, contendo enzimas que degradam a cutícula, podem atuar sobre o tegumento de ninfas e ovos, servindo como ferramentas eficazes no controle biológico de *E. heros* e promovendo uma regulação ecologicamente viável ao manejo de pragas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Insetos

Os insetos representam um dos grupos de organismos mais diversos e numerosos da Terra, com estimativas de aproximadamente 1 milhão tenham sido formalmente descritas, e com estimativa de diversidade global de até 2,2 bilhões de espécies (Li; Wiens, 2023). Essa incrível diversidade se caracteriza por uma ampla gama de adaptações morfológicas, comportamentais e fisiológicas, que possibilitam aos insetos ocuparem diferentes nichos ecológicos, sendo um grupo essencial tanto para a biodiversidade global quanto para as dinâmicas dos ecossistemas (Leather, 2022).

A classificação de um organismo como inseto é baseada em características morfológicas específicas que o distinguem de outros táxons. Para começar, os insetos possuem um corpo dividido em três seções principais: cabeça, tórax e abdome, o que facilita a especialização funcional de cada segmento (Snodgrass; Eickwort, 1994). Eles apresentam um exoesqueleto (tegumento) quitinoso rígido que fornece proteção, suporte estrutural e mitiga a dessecação, representando uma adaptação importante para sua sobrevivência em diversos nichos ecológicos (Gullan; Cranston, 2014).

Como os insetos são recobertos por um exoesqueleto rígido que impede o crescimento contínuo, eles precisam passar periodicamente pelo processo de ecdise. A ecdise é o estágio final de um ciclo de muda, em que o inseto remove e elimina a antiga camada cuticular, permitindo o desenvolvimento de um novo exoesqueleto adequado ao próximo estágio de sua vida (Gullan; Cranston, 2014).

No tórax, existem três pares de membros articulados, uma característica notável da classe Hexapoda, que são modificados para várias funções, incluindo locomoção, salto ou movimento aquático. Vários insetos também possuem um ou dois pares de asas, permitindo o voo, o que aumenta significativamente seu potencial de dispersão e aquisição de recursos. A cabeça do inseto é equipada com órgãos sensoriais altamente especializados, como olhos compostos que oferecem um amplo campo de visão e antenas capazes de detectar estímulos químicos e vibrações. Além disso, os insetos exibem uma variedade de adaptações do aparelho bucal adequadas às suas estratégias de alimentação, incluindo mastigar, sugar ou perfurar (Snodgrass; Eickwort, 1994; Gullan; Cranston, 2014).

Na fisiologia interna dos insetos, existe um mecanismo respiratório altamente eficiente, caracterizado por uma complexa rede de traqueias que facilitam a entrega direta de oxigênio aos tecidos celulares. Além disso, possuem um sistema circulatório aberto no qual a hemolinfa circula livremente, nutrindo diretamente os órgãos e facilitando a eliminação de resíduos metabólicos. Em relação às estratégias reprodutivas, os insetos exibem uma ampla gama de métodos e podem apresentar metamorfose completa e incompleta que permitem a exploração de diversos nichos ecológicos ao longo da vida (Gullan; Cranston, 2014). Essas características anatômicas não apenas contribuem para a incrível diversidade de insetos, mas também desempenham um papel significativo em seu impacto ecológico, particularmente na agricultura (Leather, 2022).

No Brasil, um país conhecido por sua rica biodiversidade, os insetos desempenham um papel duplo na agricultura. Por um lado, são essenciais para a polinização e a manutenção de ecossistemas saudáveis; por outro lado, muitas espécies agem como pragas que podem impactar significativamente a produtividade agrícola. Globalmente, estima-se que a produção agrícola sofra uma perda que varia de 10 a 28% devido a infestações de pragas (Savary *et al.*, 2019). As perdas pós-colheita tendem a ser ainda mais pronunciadas, especialmente nos piores cenários nos países em desenvolvimento. Além disso, a existência de micotoxinas em alimentos e rações animais representa riscos significativos para a saúde de humanos e animais (Casu *et al.*, 2024).

Diversos insetos-praga afetam significativamente a produtividade da agricultura brasileira, gerando grandes prejuízos econômicos. Entre as principais pragas destacam-se:

A lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e o percevejo marrom *E. heros*: são particularmente proeminentes no cultivo da soja, pois contribuem para a redução da área foliar e induzem o murchamento das vagens, o que pode comprometer gravemente a produtividade das culturas (Carpane *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2022).

A lagarta *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) inflige danos a uma variedade de culturas, como milho e algodão, exibindo notável resistência a vários inseticidas, aumentando assim os gastos de controle (Bachler *et al.*, 2024). A mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), que afeta culturas como tomate e feijão, não só extrai a seiva das plantas, mas também atua como vetor de vírus, como o *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) no tomate, resultando em deformidades morfológicas e diminuição da produtividade (Fan *et al.*, 2024). Já o bicudo do algodão *Anthonomus grandis*

(Boheman) (Coleptera: Curculionidae), reconhecido como a principal praga do algodão, causa danos às estruturas reprodutivas, influenciando diretamente a qualidade e a quantidade da colheita (Campos *et al.*, 2019).

Essas pragas, por meio de suas ações de desfolha, abscisão foliar e disseminação de patógenos, elevam os custos de produção e, em certos casos, necessitam de replantio, potencialmente culminando em redução da produtividade da cultura. Além do impacto econômico, o manejo destas também apresenta desafios para os agricultores, pois a resistência a inseticidas é uma preocupação crescente (Spencer; Hughson, 2023). Portanto, o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado de pragas (MIP), que incluem práticas culturais e biológicas, é essencial para minimizar os danos causados por esses insetos e garantir a sustentabilidade da produção agrícola (Tinoco; Silva; Rocha, 2023).

2.2 Tegumento de insetos

O tegumento dos insetos, ou exoesqueleto, é uma estrutura essencial que proporciona suporte e proteção, além de regular a interação do organismo com o ambiente, sendo responsável por permitir que o inseto resista a ameaças físicas, reduza a perda de água e proteja-se contra patógenos e inseticidas (Gillott, 1995; New, 2022). Essa estrutura é formada por três camadas principais: a lâmina basal, rica em carboidratos e fibras semelhantes ao colágeno, que atua como base para a epiderme; a própria epiderme, uma camada celular única que participa da síntese da cutícula e pode formar estruturas sensoriais e glândulas especializadas; e, finalmente, a cutícula, composta por procutícula (com endocutícula e exocutícula) e epicutícula. A endocutícula, por ser flexível, facilita o crescimento do inseto e é reabsorvida durante a ecdise, enquanto a exocutícula é rígida, sendo reforçada pelo processo de esclerotização, que confere maior durabilidade e resistência (Gillott, 1995; Footitt; Adler, 2017; Gullan; Cranston, 2014; Rajendran; Singh, 2016).

A epicutícula, camada mais externa, é coberta por cera e proteínas, essenciais para impedir a desidratação, especialmente em ambientes secos, e atua também como barreira contra inseticidas, aumentando a resistência do inseto a agentes químicos externos (Leather, 2022). Dessa forma, além de fornecer uma proteção física, o tegumento assume funções vitais como a prevenção da perda de água e a defesa contra infecções, impedindo a entrada de microrganismos patogênicos. Em certos insetos, como percevejos, a cutícula é especialmente

rígida, agindo como uma armadura, enquanto em larvas e nas áreas articulares, ela se apresenta mais flexível, facilitando a mobilidade (Gullan; Cranston, 2014).

Por essas características, o tegumento se torna um alvo importante tanto para agentes de controle biológico quanto para inseticidas químicos. Muitos inseticidas atuam como inibidores da síntese de quitina, interferindo na formação das camadas cuticulares durante a ecdise, o que leva à desidratação e à morte do inseto. Um exemplo são os inseticidas à base de benzoilureias, como o diflubenzuron, que impedem a formação de quitina, tornando o inseto mais vulnerável a infecções e a outros agentes de controle (Gillott, 1995; Gad *et al.*, 2022). Além de outros modos de ação que atuam no tegumento como agonistas do hormônio juvenil (fenoxicarb e pyriproxyfen) e os agonistas de receptores de ecdisteroides (diacilhidrazinas) (Gad *et al.*, 2022).

O controle biológico, por sua vez, tem se mostrado promissor com o uso de fungos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, que, ao infectarem os insetos, penetram o tegumento, proliferam e levam o hospedeiro à morte. Esses fungos são especialmente eficazes no controle de pragas de solo, pois o ambiente possui condições favoráveis para o desenvolvimento de conídios (Kidanu; Hago, 2020; Sinha; Choudhary; Kumari, 2016). Segundo Reddy *et al.* (2014) a utilização de fungos entomopatogênicos, isolados ou em combinação, para o controle do gorgulho da batata-doce *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae) é uma alternativa potencial aos inseticidas tradicionais atualmente empregados.

Além disso, os bioinseticidas contendo enzimas específicas, como quitinase, têm sido desenvolvidos para degradar a quitina da cutícula de maneira direcionada. Essas enzimas atuam rompendo as ligações químicas da quitina, enfraquecendo o tegumento e facilitando a entrada de agentes patogênicos ou de outras substâncias tóxicas, tornando o inseto mais vulnerável a ataques biológicos (New, 2022). Produtos à base de quitinase são considerados uma alternativa sustentável, pois degradam a quitina sem impactar negativamente o solo e o ambiente (Veliz *et al.*, 2017).

Assim, o uso combinado de fungos entomopatogênicos e inseticidas químicos que comprometem a integridade do tegumento se apresenta como uma estratégia eficaz para o controle de pragas. A análise detalhada do tegumento e de suas propriedades permite desenvolver bioinseticidas e métodos que reduzem a necessidade de inseticidas químicos convencionais, promovendo uma agricultura mais sustentável e menos dependente de produtos químicos.

2.3 Atuação de enzimas sobre insetos

As enzimas têm sido vistas como uma alternativa importante e ambientalmente segura para o controle de pragas, particularmente no contexto MIP. A utilização de enzimas que degradam componentes estruturais essenciais dos insetos, como a quitina e proteínas da cutícula, compromete a integridade do tegumento e facilita a ação de patógenos e outros agentes (Veliz *et al.*, 2017). As enzimas mais utilizadas no controle de insetos incluem lipases, proteases e quitinases (Sánchez-Pérez *et al.*, 2014), cada uma com um papel específico na degradação das estruturas externas dos insetos, reduzindo a sua capacidade de sobreviver a ambientes adversos e facilitando o controle da população de pragas.

A lipase, embora menos comum no controle de insetos, possui um papel importante na degradação de lipídios da epicutícula. A relevância das lipases no controle biológico foi confirmada em estudos que mostram sua eficácia na penetração de fungos entomopatogênicos no tegumento de insetos, tornando-se uma ferramenta promissora no combate a pragas (Keyhani, 2018). Em cultivos de hortaliças, como tomate e pimentão, onde pragas como o ácaro vermelho causam danos significativos, a aplicação de lipase tem mostrado eficácia em aumentar a taxa de mortalidade (Lee; Park, 2019).

A epicutícula dos insetos, camada externa da cutícula, funciona como uma barreira impermeável e contém uma mistura complexa de lipídios, alcanos, ésteres e ácidos graxos que protegem o inseto de ataques microbianos. Lipases secretadas por fungos como *B. bassiana* e *M. robertsii* e também por outros organismos como as bactérias (El-Sayed *et al.*, 2022), hidrolisam essas ligações lipídicas, o que degrada a epicutícula e permite a liberação inicial de nutrientes, facilitando a penetração dos fungos na cutícula (Ali; Ren; Huang, 2014). Estudos indicam que a presença de lipases auxilia na adesão de esporos à epicutícula e no início da degradação dos componentes lipídicos, o que melhora significativamente a germinação dos conídios e aumenta a mortalidade das pragas (Ali; Ren; Huang, 2014). Além disso, algumas lipases estão associadas a mecanismos de resistência em insetos, como *Culex pipiens pallens*, onde a lipase A contribui para a resistência contra a deltametrina (Hu *et al.*, 2020). Assim, a atividade lipolítica auxilia no controle de insetos-pragas por fungos entomopatogênicos, pois facilita a adesão e degradação da cutícula, além de fornecer uma fonte de nutrientes para os patógenos ou diretamente por meio da desidratação dos insetos em condições de seca.

Proteases desempenham um papel essencial no controle de insetos, especialmente no processo de degradação da cutícula, composta por proteínas. Essa degradação enfraquece o exoesqueleto dos insetos, aumentando sua suscetibilidade a outros agentes de controle biológico, como enzimas adicionais ou patógenos. O uso de proteases em estratégias de controle biológico é amplamente estudado devido à sua capacidade de atuar seletivamente sobre as proteínas estruturais da cutícula, comprometendo a integridade do tegumento e facilitando a penetração de compostos inseticidas (Bar-Shimon *et al.*, 2004).

A aplicação combinada de proteases e quitinases tem demonstrado ser altamente eficaz na intensificação dos efeitos letais sobre a barreira cuticular dos insetos. As proteases degradam proteínas específicas, enquanto as quitinases atuam na quitina, resultando em uma sinergia que acelera a desintegração do exoesqueleto e a morte do inseto (Mancillas-Paredes *et al.*, 2019). Em experimentos com *Metopolophium dirhodum* (Walker) (Hemiptera: Aphididae), a aplicação de *B. bassiana*, grande secretora de proteases, resultou na redução significativa da resistência da cutícula, e com taxa de mortalidade de 95% após 7 dias de aplicação (Abdel Aziz; Ebrahim; El-Gabaly, 2018).

Entre as proteases mais investigadas, a serina-protease alcalina *Pr1*, por exemplo, possui uma estrutura molecular com cinco cisteínas, formando pontes dissulfeto que estabilizam sua estrutura e garantem uma atividade catalítica eficaz na degradação da cutícula (Banani *et al.*, 2014). Algumas proteases, como a melatoprotease, quando introduzidas no hemocélio de insetos, podem exercer um efeito inseticida. Um exemplo ilustrativo é a metaloprotease reprotisina, *EpMP3*, derivada do veneno da vespa parasítica *Eulophus pennicornis* (Nees) (Price *et al.*, 2009), que foi responsável pela mortalidade de larvas de *Lacanobia oleracea* (Linnaeus) (Lepidoptera: Noctuidae) após a administração de sua forma recombinante purificada no hemocélio. A morte das larvas ocorreu antes ou durante a muda para o próximo instar, com as larvas sobreviventes apresentando um crescimento e desenvolvimento significativamente mais lentos após a injeção (Price *et al.*, 2009).

Já quitinase é uma das enzimas mais estudadas e aplicadas no controle de insetos, devido à sua ação sobre a quitina, um dos principais componentes estruturais do exoesqueleto desses organismos. Ao atacar diretamente essa camada protetora, a quitinase promove o enfraquecimento estrutural da cutícula dos insetos, tornando-os vulneráveis à desidratação e a outros agentes externos, levando eventualmente à morte. Esse efeito torna a quitinase uma ferramenta valiosa no desenvolvimento de bioinseticidas, que são alternativas sustentáveis e ecologicamente seguras aos pesticidas químicos tradicionais (Dikbas *et al.*, 2023).

A quitina é um biopolímero composto por unidades de N-acetil glucosamina ligadas por ligações β -1,4, e está presente em abundância na natureza, sendo um dos componentes principais tanto das paredes celulares de fungos quanto do exoesqueleto de invertebrados (Tharanathan; Kittur, 2003). A ação da quitinase ocorre pela hidrólise das ligações β -1,4 da quitina, que resulta na liberação de produtos como N, N'-diacetilquitobiose e monômeros de N-acetil glucosamina (GlcNAc). A quitinase é amplamente encontrada em diferentes organismos, incluindo plantas, bactérias, fungos e animais, e seu papel é fundamental na degradação da quitina em diversos contextos ecológicos e biológicos (Nagpure; Choudhary; Gupta, 2014).

As quitinases se classificam em duas famílias principais de glicosil hidrolases, GH18 e GH19, com base em sua estrutura e função. Essas famílias apresentam diferenças nas fontes e modos de atuação: enquanto as quitinases GH18 são encontradas em diversos organismos como bactérias, fungos, vírus e animais, as GH19 são restritas principalmente a plantas (Sahai; Manocha, 1993; Kezuka *et al.*, 2006).

Na aplicação prática, a quitinase tem sido explorada como um inseticida biológico em diversas espécies. Em um estudo com a praga de armazenamento *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), uma nanoformulação de quitinase imobilizada em nanopartículas de ZnO demonstrou uma taxa de mortalidade de 100% na concentração de 6 mg.L⁻¹, com um tempo médio de morte de apenas 2,4 dias. Esse resultado destaca o potencial da quitinase em aplicações de armazenamento de grãos, proporcionando um método eficaz e seguro para a proteção de culturas, como o milho, contra infestações que poderiam comprometer a qualidade e o rendimento dos alimentos (Dikbas *et al.*, 2023).

Outro exemplo da eficácia da quitinase como bioinseticida foi demonstrado com a quitinase extraída da bactéria *Amycolatopsis orientalis*, aplicada contra larvas de *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae), um inseto amplamente utilizado como modelo em estudos laboratoriais. As concentrações de quitinase variaram de 25 a 200 mL.g⁻¹ e os resultados mostraram mortalidade larval de até 94,68% na maior concentração. Além de promover alta taxa de mortalidade, o tratamento também prolongou as fases larval e pupal, sugerindo que a quitinase interfere no metabolismo digestivo e no crescimento do inseto, comprometendo a capacidade de desenvolvimento e eventualmente levando-o à morte (Elbadawy *et al.*, 2023). Esses resultados reforçam a viabilidade da quitinase como bioinseticida, particularmente em situações em que o uso de pesticidas tradicionais pode ser prejudicial ao meio ambiente.

A função inseticida da quitinase também é ampliada por sua ação combinada com outras enzimas, como proteases. Em muitos estudos, a combinação de quitinase com proteases mostrou um efeito sinérgico, aumentando a eficiência na degradação do exoesqueleto de insetos (Singh; Arya, 2019). Essa abordagem combinada é de especial interesse na engenharia de bioinseticidas, pois pode levar a formulações mais potentes e de rápida ação, o que é benéfico para o controle de pragas em campo.

A inibição dessas enzimas comprometem drasticamente o processo de penetração cuticular, ressaltando sua importância na eficiência de métodos biológicos de controle de insetos (Pretschner *et al.*, 2018). As quitinases, lipases e proteases têm diferentes resistências térmicas que impactam seu uso, como no controle de pragas. Quitinases, como as da bactéria *Serratia marcescens*, mantêm estabilidade até 90 °C (Emruzi *et al.*, 2020) , enquanto lipases de *Thermomyces lanuginosus* geralmente desnaturam acima de 71-74 °C (Souza *et al.*, 2021). Proteases, como as do fungo *Aspergillus oryzae*, suportam até 60 °C em alta salinidade, mas são vulneráveis a temperaturas mais altas (Wang *et al.*, 2013). Portanto, é essencial atentar à temperatura durante a aplicação e ao armazenamento adequado, pois altas temperaturas podem comprometer sua eficácia e estabilidade.

Muitas bactérias produzem essa enzima, que facilita a infecção e subsequente morte dos insetos hospedeiros. Um dos exemplos mais conhecidos dessa aplicação é a combinação de quitinases com proteínas *Cry* de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) em plantas transgênicas (Sampson; Gooday, 1998). A quitinase e as proteínas *Cry* atuam de maneira complementar: enquanto a *Cry* causa danos nas células intestinais dos insetos, a quitinase enfraquece o exoesqueleto e facilita a ação tóxica. Esse tipo de sinergia entre as enzimas aumenta a eficiência dos bioinseticidas e amplia o espectro de pragas controladas (Martínez-Zavala *et al.*, 2020).

Diversas outras bactérias têm a capacidade de produzir enzimas com potencial inseticida. Um exemplo é *Lactobacillus acidophilus*, amplamente conhecida por suas propriedades probióticas (Yurliasni *et al.*, 2024) e por sua capacidade de degradar e desintoxicar inseticidas (Leska *et al.*, 2022; Kiruthika *et al.*, 2024; Sayadi *et al.*, 2024). Além dessas funções, essa bactéria apresenta potencial para produzir enzimas relevantes no controle de pragas, incluindo proteases, lipases e quitinases, que são liberadas durante seu metabolismo secundário (Gandhi; Shah, 2014; Palomino *et al.*, 2015; Horvath-Szanic *et al.*, 2020; El-Sayed *et al.*, 2022).

No Brasil, há atualmente 263 produtos registrados como bioinseticidas, sendo os principais agentes *B. bassiana* (com 95 produtos), *M. anisopliae* (91 produtos), *B. thuringiensis* (44 produtos), *Baculovirus anticarsia* (14 produtos) e *Isaria fumosorosea* (8 produtos). Aproximadamente 80% desses bioinseticidas e bioacaricidas disponíveis no mercado são baseados em isolados específicos, como *M. anisopliae* IBCB 425 e *B. bassiana* IBCB 66 (Bettiol; Medeiros, 2023).

Além desses bioinseticidas, existem também produtos bioquímicos compostos por metabólitos provenientes de processos fermentativos, como Soil-Set®, Agro-Mos®, Nem-Out™ e Compost-Aid®, que podem conter enzimas como quitinases e proteases, capazes de comprometer a integridade da cutícula dos insetos. Esses produtos demonstram grande potencial como nematocidas (Lopes *et al.*, 2019; Miamoto *et al.*, 2017) e são promissores para o controle de pragas, embora ainda necessitem de estudos adicionais para confirmar sua viabilidade prática. A utilização de metabólitos representa uma tecnologia verde, capaz de aprimorar o controle biológico e de contribuir para um manejo sustentável de pragas no Brasil e no mundo.

Por fim, muitos produtos naturais, especialmente metabólitos especializados de plantas, oferecem grande potencial para o controle de pragas. Embora essa seja uma opção viável para compostos abundantes e de fácil extração ou produção sintética, o uso de muitos bioativos orgânicos ainda enfrenta limitações devido à dificuldade de aumentar a produção de forma econômica e acessível em larga escala.

2.4 Euschistus heros

Euschistus heros, ou percevejo-marrom, é uma praga significativa no Brasil, especialmente nas culturas de soja, milho e feijão. Este inseto possui coloração marrom, corpo achatado e mede entre 12 e 15 mm, com ciclo de vida até se tornar adulto de 45 dias (Rodrigues; Garcia; Parra, 2023). Suas peças bucais sugadoras permitem a extração de seiva, danificando tecidos vegetais e comprometendo a formação de grãos e sementes, além de inserir toxinas que provocam a retenção das folhas da soja, a chamada soja louca (Santos *et al.*, 2024).

Na soja, o percevejo-marrom causa abortamento de vagens e grãos/sementes chochos, o que afeta a produtividade e qualidade do produto final, gerando perdas econômicas consideráveis, principalmente na produção de sementes (Tibola *et al.*, 2021). Estima-se que

em infestações severas, as perdas podem alcançar até 30%, com necessidade de múltiplas aplicações de inseticidas, elevando custos e promovendo resistência de populações (Tibola *et al.*, 2021; Silva, 2023).

O controle químico com neonicotinoides tem sido o método predominante para controlar *E. heros*, mas traz sérios desafios, incluindo resistência crescente das populações e impactos negativos para o meio ambiente, particularmente para polinizadores como abelhas (Shareefdeen; Elkamel, 2024), reforçando a necessidade de métodos complementares e alternativos. Estratégias sustentáveis, como o uso do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygastridae), que parasita os ovos de *E. heros*, têm sido exploradas como uma forma eficaz de manejo biológico, reduzindo a necessidade de inseticidas e sendo incorporadas aos programas de MIP (Ramos *et al.*, 2024).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Pragas (LCBIOL) do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Escola de Ciências Agrárias (ESAL).

Ninfas de *E. heros* foram obtidas da criação de manutenção do LCBIOL. Os insetos são mantidos em recipientes de criação com dimensões variadas de acordo com o estágio de desenvolvimento (adultos 53 × 37 × 10 cm; ninfas 38 × 28 × 12 cm). No interior dos recipientes, utiliza-se talco nas paredes para evitar a fuga, no fundo papel toalha e a parte superior é coberta com tecido voil preso com elástico. Os insetos são alimentados com dieta natural à base de grãos secos de soja, girassol, amendoim e vegetais frescos como vagens de feijão e quiabo. Também é fornecida água em placas de Petri contendo algodão umedecido. Como abrigo para os insetos, uma folha de papel toalha enrolada é adicionada, e para a oviposição, tecido fralda (4 × 12 cm). As massas de ovos extraídas são colocadas em recipientes plásticos (33 × 23 × 12 cm) com vagens de feijão e quiabo até a eclosão das ninfas.

Atividade inseticida

Para o bioensaio foram selecionadas ninfas de idade padronizadas (1º e 2º, 3º, 4º e 5º instar). Foram avaliados três tratamentos para verificar a atividade inseticida:

i) Produto (Soil Set®): solução com nutrientes balanceados e complexados com aminoácidos, visando avaliar efeitos inseticidas.

ii) Desnaturado: Soil Set® após processo de desnaturação, no qual as enzimas e metabólitos ativos foram inativados através de fervura por 2 horas, em agitador magnético digital com aquecimento - modelo Luca-0851 (Lucadema®) (Figura 1), seguido de resfriamento e armazenamento sob condições ambientais controladas.

iii) Controle: água destilada.

Para a avaliação da atividade inseticida, foram utilizadas 60 ninfas para cada instar, divididas em quatro grupos de 15 indivíduos cada, representando repetições (Figura 2).

Figura 1 – Procedimento de desnaturação do bioensumo por meio da fervura em agitador com aquecimento.



Fonte: do Autor (2024).

Figura 2 – Ninfas de *Euschistus heros* de 5º instar para avaliação experimental.



Fonte: do Autor (2024).

As ninfas foram submersas por 5 segundos em 30 mL de cada solução (produto ativo, produto desnaturado e água destilada), com dosagem de 2 mL.L^{-1} de água. Esse processo foi repetido a cada 24 horas, durante três dias consecutivos. Após a imersão, o excesso de umidade foi removido deixando ninfas caminhar sob papel toalha.

As ninfas foram mantidas em condições ambientais controladas, com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 65% de umidade relativa em arenas ($9,5 \times 7,5 \text{ cm}$) com alimento e algodão com água (Figura 3). A mortalidade das ninfas foi registrada a cada 24 horas por um período de 10 dias. Considerou-se como mortas as ninfas que não respondiam ao estímulo tátil.

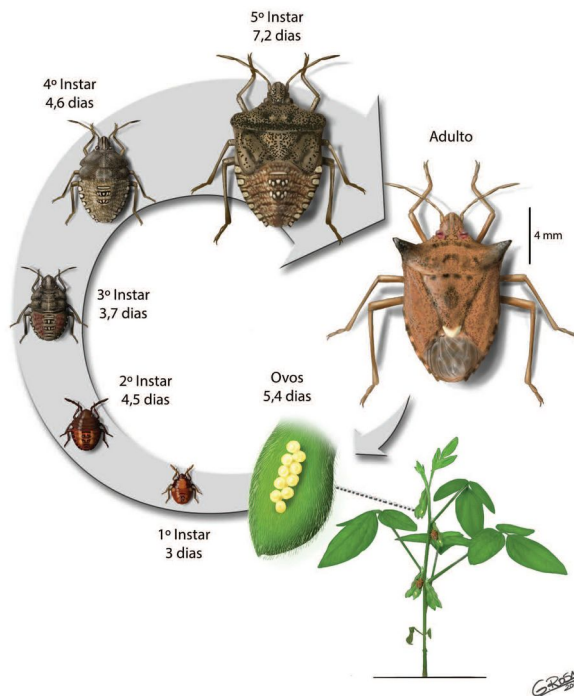
Durante o período de avaliação de 10 dias, o controle das ecdises foi realizado por meio da média de ninfas que sofreram ecdise para avaliar a mudança de instar, pela observação de exoesqueletos remanescentes, o que permitiu identificar as mudas realizadas pelas ninfas. Adicionalmente, utilizou-se um guia do ciclo de vida de *E. heros* (Figura 4), para diferenciar com precisão cada um dos instares, facilitando a avaliação e categorização correta dos estágios ninfais. Para esse bioensaio o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com arranjo fatorial 3×4 , consistindo de três tratamentos (produto, desnaturação e controle) e quatro estágios ninfais (1º e 2º, 3º, 4º e 5º instar).

Figura 3 – Unidades experimentais utilizadas no bioensaio. A) Composição das arenas. B) Arenas com ninfas de *Euschistus heros* e alimento.



Fonte: do Autor (2024).

Figura 4 – Ciclo de desenvolvimento do percevejo-marrom, *Euschistus heros*.



Fonte: Cividanes (1992).

Atividade ovicida

Para a avaliação da atividade ovicida, foram conduzidas seis repetições, com DIC. Cada repetição continha uma postura com 10 ovos de *E. heros*, que foram individualmente submersas em 30 mL de cada extrato (produto, desnaturação e controle) e, em seguida,

transferidas para tubos de ensaio individuais para observação da eclosão dos ovos. A taxa de eclosão foi registrada periodicamente durante 10 dias, e transformada em porcentagem de eclosão, para medir o efeito ovicida de cada tratamento.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Core Team, 2022). A qualidade dos modelos foi avaliada pelo pacote DHARMA (Hartig, 2024), enquanto o pacote MuMin (Bartoń, 2024) foi utilizado para a seleção do melhor modelo pelo critério de informação de Akaike (AIC). A função hnp (Moral; Hinde; Demétrio, 2017) e o gráfico Q-Q foram aplicados para verificar o ajuste dos resíduos aos modelos. O pacote Multcomp (Hothorn; Bretz; Westfall, 2008) foi utilizado para realizar comparações e o pacote ggplot2 (Wickham, 2016) para confecção dos gráficos.

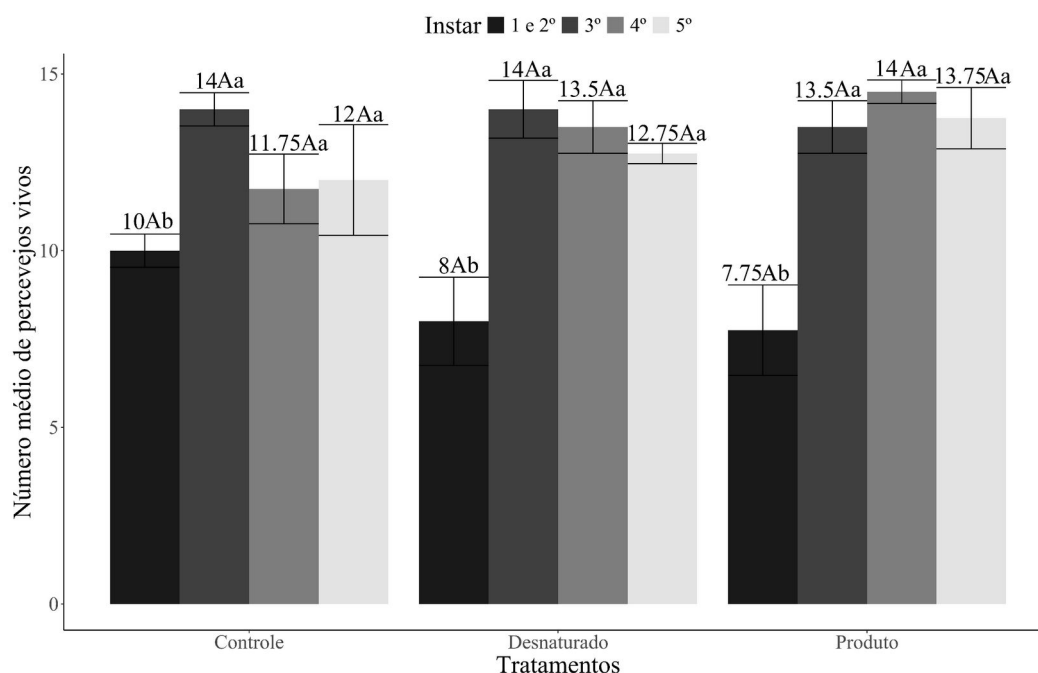
Após a constatação de que os dados não atendiam à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (Shapiro; Wilk; Chen, 1968), os dados de sobrevivência foram ajustados a modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição Quasipoisson para o tratamento e o estágio ninfal, e os dados de mudança de instar foram ajustados a GLM com distribuição Poisson para tratamento e Quasipoisson para estágio. Análises de variância (ANOVA) foram realizadas para verificar diferenças entre os tratamentos, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (post-hoc) (Lenth, 2016), com significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de imersão das ninfas de *E. heros*, os tratamentos aplicados não mostraram efeito significativo na mortalidade das ninfas ($p = 0,89$; $GL = 2$; $\chi^2 = 0,23$) (Figura 5). Embora não houvesse impacto dos produtos, observou-se uma variação significativa de mortalidade entre os diferentes estágios ninfais ($p < 0,001$; $GL = 3$; $\chi^2 = 43,43$), com mortalidade mais elevada nas ninfas de 1º e 2º instar em comparação com as de 3º, 4º e 5º instares ($p < 0,001$ para todas as comparações) (Figura 5). A maior mortalidade dos estágios juvenis de *E. heros* pode ser explicada pela vulnerabilidade natural desses instares a condições ambientais, conforme observado em outros insetos (Gullan; Cranston, 2014; Carpane *et al.*, 2022). A simples imersão em água já pode induzir estresse fisiológico em ninfas de 1º e 2º instares, o

que sugere que fatores ambientais podem estar contribuindo para os índices de mortalidade observados independentemente da presença de metabólitos.

Figura 5 – Número médio de ninfas de *E. heros* sobreviventes à imersão aos produtos em diferentes instares após 10 dias de imersão.



*Média seguida de mesma letra maiúscula entre os produtos no mesmo instar, e minúscula entre os instares no mesmo produto não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: do Autor (2024).

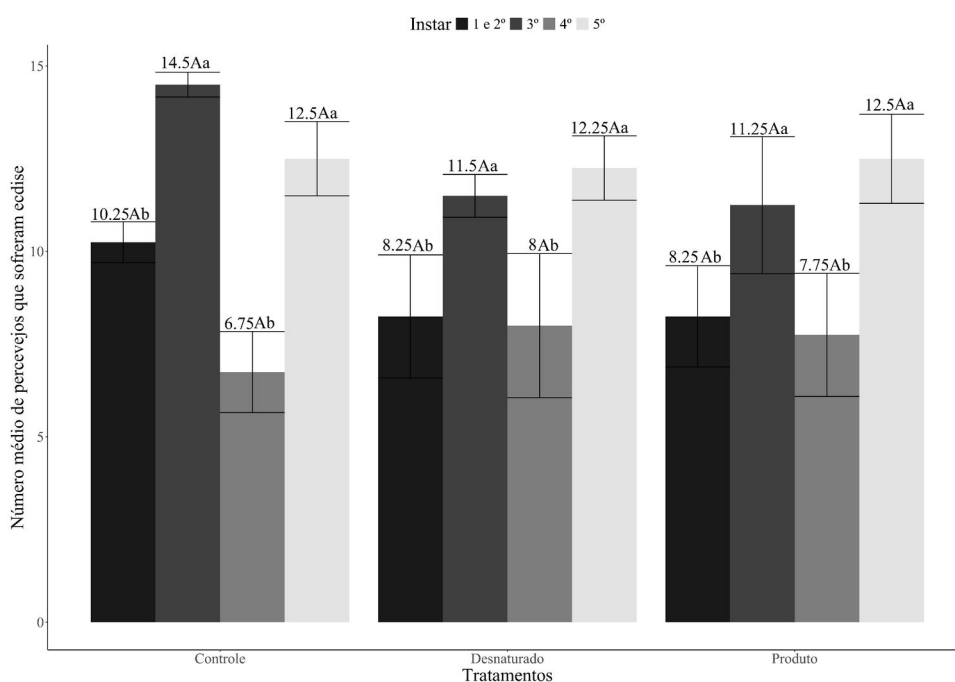
Esse achado contrasta com outros trabalhos que evidenciaram a eficácia de microrganismos produtores de enzimas como quitinases, lipases e proteases no controle de insetos pragas. Por exemplo, o fungo *B. bassiana*, que é bem conhecido por produzir quitinases, já demonstrou alta mortalidade (de até 100%) em percevejos, incluindo *Nezara viridula* (Linnaeus) e *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) (Ramos *et al.*, 2024). Mesmo que o método de aplicação e os metabólitos utilizados neste estudo não tenham produzido o efeito esperado, há evidências promissoras, em outros contextos, que reforçam o potencial do uso de enzimas degradadoras de cutícula em estratégias de controle biológico.

A ausência de mortalidade pode ser explicada, pois os metabólitos testados podem não ter apresentado concentrações adequadas das enzimas ativas necessárias para penetrar a cutícula ou outros tecidos vitais de *E. heros*. Em comparação, estudos com quitinases de

Stenotrophomonas maltophilia conseguiram causar rupturas na cutícula de besouros da batata, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Aktas *et al.*, 2023). Além disso, pesquisas demonstraram que fungos como *B. bassiana* e *M. anisopliae* têm efeito sobre diferentes ordens de insetos, como cochonilhas (*Paracoccus marginatus* (Williams e Granara de Willink) (Hemiptera: Pseudococcidae) e pulgões-do-repolho (*Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) (Hemiptera: Aphididae), destacando que os compostos produzidos por essas espécies possuem efeito inseticida (Amutha; Gulsar Banu, 2017; Mehrkhou *et al.*, 2023).

Quanto à mudança de instar, não houve influência dos produtos na ecdise das ninfas ($p = 0,58$; GL = 2; $\chi^2 = 1,09$) (Figura 6). No entanto, os diferentes estágios ninfaís apresentaram frequências distintas de ecdise ($p < 0,001$; GL = 3; $\chi^2 = 29,94$), com frequência de ecdise inferior nas ninfas de 1º e 2º, 4º instares em comparação com os instares de 3º e 5º (Figura 6). Esse resultado indica que o processo de ecdise pode ser mais lento ou menos frequente em alguns estágios devido a fatores de desenvolvimento que ainda precisam ser compreendidos em *E. heros*, mas que podem estar relacionados a variações hormonais e ao estresse fisiológico do inseto (Snodgrass; Eickwort, 1994; Rajendran; Singh, 2016).

Figura 6 – Número médio de ninfas de *E. heros* que sofreram ecdise após à imersão aos produtos em diferentes instares após 10 dias.



*Média seguida de mesma letra maiúscula entre os produtos no mesmo instar, e minúscula entre os instares no mesmo produto não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

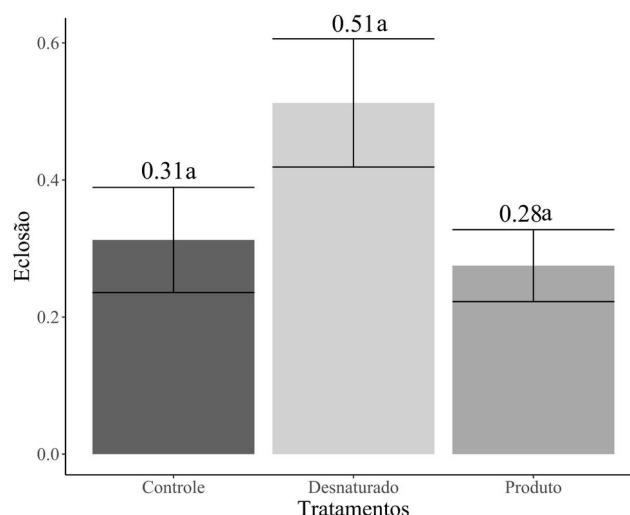
Fonte: do Autor (2024).

Este achado também é diferente de estudos em que enzimas degradadoras de cutícula interferiram no crescimento e desenvolvimento de outros insetos, como as quitinases isoladas de *Xenorhabdus nematophila* reduziram drasticamente a taxa de desenvolvimento de larvas de *H. armigera*, resultando em mais de 90% de mortalidade em 72 horas (Mahmood *et al.*, 2020).

Além disso, quitinases como a GH18, avaliadas por Chen *et al.* (2021) em nematoides como *Caenorhabditis elegans*, mostraram interferir significativamente na ecdise e na muda larval, retardando a eclosão dos ovos e inibindo a transição para os estágios seguintes. Esses resultados destacam que enzimas como as quitinases podem afetar processos fundamentais de desenvolvimento, mesmo em organismos filogeneticamente distantes. A ausência de efeitos no presente estudo, no entanto, pode estar relacionada à baixa concentração de enzimas no local de ação, como a membrana peritrófica ou a cutícula das ninfas de *E. heros*. Outra explicação seria uma resistência natural ou adaptativa dessa espécie, que pode estar associada a características específicas de sua biologia.

Por fim, na avaliação de atividade ovicida, o teste de imersão dos ovos não obteve efeito dos produtos na taxa de eclosão ($p = 0.07$, $GL = 2$, $\chi^2 = 5.46$) (Figura 7), indicando ausência de atividade ovicida dos metabólitos bacterianos testados. Embora existam relatos de enzimas produzidas por fungos entomopatogênicos (como lipase e protease), também presentes nos metabólitos bacterianos, atuando na degradação da cutícula e membranas dos ovos de alguns insetos, os resultados sugerem que o produto avaliado não apresentam essa capacidade sobre *E. heros* (Zhang *et al.*, 2017; Abd-Elazeem *et al.*, 2024).

Figura 7 – Porcentagem de eclosão dos ovos de *E. heros* após 10 dias da exposição aos produtos por imersão.



*Média seguida de mesma não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: do Autor (2024).

Como atividade ovicida há também trabalhos contratantes sobre estas enzimas, como as produzidas por *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.* foram capazes de inibir até 100% da eclosão de ovos do carrapato-do-camelo (*Hyalomma dromedarii* (Koch) (Acari: Ixodidae)) (Habeeb; Ashry; Saad, 2017). No mesmo sentido, quitinases produzidas por *Pochonia chlamydosporia* foram aplicadas contra ovos do nematoide *Cyathostominae*, reduzindo a eclosão dos ovos em 72,8% em apenas 24 horas (Braga *et al.*, 2010).

A ausência de atividade ovicida neste trabalho pode ser atribuída a composição específica da estrutura dos ovos de *E. heros*, o que pode limitar a penetração e a ação dos metabólitos aplicados. Além disso, os metabólitos bacterianos avaliados podem não conter as enzimas em concentrações suficientes ou as condições de aplicação podem não ter favorecido sua atividade.

Outro fator relevante é o modo de aplicação dos metabólitos. Trabalhos com fungos entomopatogênicos indicam que a combinação de metabólitos com outros fatores de estresse, como umidade alta ou condições ambientais adversas, pode potencializar o impacto sobre ovos de insetos. Por exemplo, quitinases e proteases extraídas de *M. anisopliae* mostraram alta eficiência em condições de alta umidade, sugerindo que ajustes na metodologia podem melhorar os resultados (Mancillas-Paredes *et al.*, 2019). Ademais, trabalhos como os de Rodríguez-Romero *et al.* (2023) mostram que a combinação de enzimas com inseticidas convencionais pode superar a resistência das pragas, ampliando o espectro de ação. Tal abordagem seria particularmente interessante para *E. heros*, dada a importância econômica dessa espécie em culturas como soja e milho.

No contexto de MIP, a integração de metabólitos bacterianos que possuem estas enzimas degradadoras de cutícula com outras ferramentas de manejo pode ser uma estratégia viável para reduzir a dependência de inseticidas químicos. A busca por combinações que combinem a especificidade biológica dos metabólitos à eficácia química dos inseticidas tradicionais pode oferecer uma abordagem mais robusta e ambientalmente amigável para o controle de pragas como *E. heros*.

Portanto, embora este estudo não tenham demonstrado efeitos significativos da atividade inseticida e ovicida, abrem caminho para novas investigações que busquem otimizar o uso de metabólitos bacterianos em estratégias de controle biológico. Explorar a interação desses compostos com outros agentes biológicos, bem como ajustar os protocolos de aplicação, representa um passo importante para avançar na aplicação prática dessas tecnologias em condições de campo.

5. CONCLUSÃO

Os metabólitos provenientes do produto Soil-Set®, isoladamente, não possuem atividade inseticida significativa sobre ninfas e ovos de *E. heros*, não afetando mortalidade, mudança de instar ou eclosão de ovos.

REFERÊNCIAS

ABDEL AZIZ, M.; EBRAHIM, A.; EL-GABALY, A. Combined Effect of Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* and Certain Insecticides for the Control of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) under Semi-Field Conditions. **Journal of Plant Protection and Pathology**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 573–576, 2018. <https://doi.org/10.21608/jppp.2018.43769>

ABD-ELAZEEM, Eman *et al.* Isolation and identification of entomopathogenic fungi associated with the spiny bollworm (SBW), *Earias insulana*, (Boisd.) (Lepidoptera: Nolidae) cadavers and evolution of their metabolites against insect's biological parameter. **Egyptian Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 0–0, 2024. <https://doi.org/10.21608/ejar.2024.257016.1487>

AITA, Bruno C. *et al.* Spray-Dried Powder Containing Chitinase and β -1,3-Glucanase with Insecticidal Activity against *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Processes**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 587, 2022. <https://doi.org/10.3390/pr10030587>

AKTAS, Cigdem *et al.* Purification and characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* chitinase with antifungal and insecticidal properties. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, [s. l.], v. 53, n. 7, p. 797–806, 2023. <https://doi.org/10.1080/10826068.2022.2142942>

ALI, Shaukat; REN, Shunxiang; HUANG, Zhen. Extracellular lipase of an entomopathogenic fungus affecting larvae of a scale insect. **Journal of Basic Microbiology**, [s. l.], v. 54, n. 11, p. 1148–1159, 2014. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300813>

AMUTHA, M.; GULSAR BANU, J. Variation in Mycosis of Entomopathogenic Fungi on Mealybug, *Paracoccus marginatus* (Homoptera: Pseudococcidae). **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 87, n. 2, p. 343–349, 2017. <https://doi.org/10.1007/s40011-015-0624-8>

BACHLER, Andreas *et al.* Identification of a novel resistance gene which provides insight into Vip3Aa mode of action in *Helicoverpa armigera*. [S. l.]: **Genomics**, 2024. <https://doi.org/10.1101/2024.08.11.607516>

BANANI, Houda *et al.* Biocontrol activity of an alkaline serine protease from *Aureobasidium pullulans* expressed in *Pichia pastoris* against four postharvest pathogens on apple. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 182–183, p. 1–8, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.05.001>

BAR-SHIMON, Meirav *et al.* Characterization of extracellular lytic enzymes produced by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. **Current Genetics**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 140–148, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00294-003-0471-7>

BARTOŃ, Kamil. **MuMIn: Multi-Model Inference**, 2024. <https://doi.org/10.32614/CRAN.package.MuMIn>

BETTIOL, Wagner; MEDEIROS, Flávio H. V. de. **Como o Brasil se tornou o maior produtor e consumidor de produtos de biocontrole.** [S. l.], 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79156418/artigo-como-o-brasil-se-tornou-o-maior-produtor-e-consumidor-de-produtos-de-biocontrole>. Acesso em: 10 nov. 2024.

BRAGA, Fabio Ribeiro *et al.* Ovicidal action of a crude enzymatic extract of the fungus *Pochonia chlamydosporia* against *Cyathostomin* eggs. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 172, n. 3–4, p. 264–268, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.05.011>

CAMPOS, Karolayne Lopes *et al.* Integration of Cotton Plant Resistance With Selected Organic Boll Weevil, *Anthonomus grandis grandis Boheman* (Coleoptera: Curculionidae) Control Tactics. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 1, 2019. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n5p1>

CARPANE, Pablo Daniel *et al.* **Damage of Major South American Lepidopteran Soybean Pests.** [S. l.]: Zoology, 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.06.24.497488>

CASU, Alessia *et al.* Changing climate, shifting mycotoxins: A comprehensive review of climate change impact on mycotoxin contamination. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. e13323, 2024. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13323>

CHEN, Wei *et al.* Structure-based virtual screening of highly potent inhibitors of the nematode chitinase *Ce Cht1*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 1198–1204, 2021. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1931862>

CIVIDANES, Francisco Jorge. **Determinação das exigências térmicas de *Nezara viridula* (L., 1758), *Diezodorus guildinii* (West., 1837) e *Euschistus heros* (Fabr., 1798) (Heteroptera : Pentatomidae) visando ao seu zoneamento ecológico.** 1992. Doutorado em Entomologia - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992. <https://doi.org/10.11606/T.11.1992.tde-20230818-145405>

DİKBAS, Neslihan *et al.* The effect of immobilized chitinase enzyme on the biocontrol of *Sitophilus zeamais*. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 170–177, 2023. <https://doi.org/10.55730/1300-011X.3075>

ELBADAWY, Hamada Hosney *et al.* Bio-insecticidal potentiality of chitinase extracted from *Amycolatopsis orientalis A13 sp. nova* actinomycete against *Galleria mellonella*. **Al-Azhar Bulletin of Science**, [s. l.], v. 34, n. 1, 2023. <https://doi.org/10.58675/2636-3305.1632>

EL-SAYED, Abeer I. M. *et al.* Identification of Lactobacillus strains from human mother milk and cottage cheese revealed potential probiotic properties with enzymatic activity. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 22522, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27003-2>

EMRUZI, Zeinab *et al.* Kinetic and Thermo-Inactivation Thermodynamic Parameters of a Novel Isolated *Serratia Marcescens B4A* Chitinase. **Biomacromolecular Journal**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 46–55, 2020. Disponível em: https://www.bmmj.org/article_244013.html.

FAN, Yun-Yun *et al.* Role of aminopeptidase N-like in the acquisition of begomoviruses by *Bemisia tabaci*, the whitefly vector. **Insect Science**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 707–719, 2024. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.13336>

FOOTTIT, Robert G.; ADLER, Peter H. (org.). **Insect Biodiversity: Science and Society**. 1. ed. [S. l.]: Wiley, 2017. <https://doi.org/10.1002/9781118945568>

GAD, Hassan A. *et al.* Potential of low application rate combinations of three chitin synthesis inhibitor insecticides with spinosad for the control of *Sitophilus oryzae* on stored wheat. **Journal of Stored Products Research**, [s. l.], v. 95, p. 101926, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101926>

GANDHI, Akanksha; SHAH, Nagendra P. Cell growth and proteolytic activity of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* in milk as affected by supplementation with peptide fractions. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s. l.], v. 65, n. 8, p. 937–941, 2014. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.945154>

GILLOTT, Cedric. The Integument. In: GILLOTT, Cedric. **Entomology**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995. p. 349–363. https://doi.org/10.1007/978-94-017-4380-8_11

GULLAN, Penny J.; CRANSTON, Peter S. **The insects: an outline of entomology**. 5. ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2014.

HABEEB, Salwa M.; ASHRY, Heba M.; SAAD, Moataza M. Ovicidal effect of chitinase and protease enzymes produced by soil fungi on the camel tick *Hyalomma dromedarii* eggs (Acari: Ixodidae). **Journal of Parasitic Diseases**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 268–273, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12639-016-0791-4>

HORVATH-SZANICS, E. *et al.* Study of chitinase and chitinolytic activity of lactobacillus strains. **Acta Alimentaria**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 214–224, 2020. <https://doi.org/10.1556/066.2020.49.2.11>

HOTHORN, Torsten; BRETZ, Frank; WESTFALL, Peter. Simultaneous Inference in General Parametric Models. **Biometrical Journal**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. 346–363, 2008. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>

HU, Hong-Xia *et al.* Lipase is associated with deltamethrin resistance in *Culex pipiens pallens*. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 119, n. 1, p. 23–30, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06489-2>

KEYHANI, Nemat O. Lipid biology in fungal stress and virulence: Entomopathogenic fungi. **Fungal Biology**, [s. l.], v. 122, n. 6, p. 420–429, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.07.003>

KEZUKA, Yuichiro *et al.* Structural Studies of a Two-domain Chitinase from *Streptomyces griseus* HUT6037. **Journal of Molecular Biology**, [s. l.], v. 358, n. 2, p. 472–484, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.02.013>

KIDANU, Sisay; HAGO, Legese. Entomopathogenic Fungi as a Biological Pest Management Option: A Review. **International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 10, 2020. <https://doi.org/10.20431/2454-6224.0606001>

KIRUTHIKA, K. *et al.* Role of Lactic Acid Bacteria in Insecticide Residue Degradation. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [s. l.], 2024. <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10298-0>

LEATHER, Simon. **Insects: a very short introduction**. First edition. Oxford: Oxford University Press, 2022. (**Very short introductions**, v. 709).

LEE, Hye-Jung; PARK, Ohkmae K. Lipases associated with plant defense against pathogens. **Plant Science**, [s. l.], v. 279, p. 51–58, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.07.003>

LENTH, Russell V. Least-Squares Means: The R Package **lsmeans**. **Journal of Statistical Software**, [s. l.], v. 69, n. 1, 2016. <https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01>

LESKA, Aleksandra *et al.* Binding and Detoxification of Insecticides by Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Honeybee (*Apis mellifera* L.) Environment—An In Vitro Study. **Cells**, [s. l.], v. 11, n. 23, p. 3743, 2022. <https://doi.org/10.3390/cells11233743>

LI, Xin; WIENS, John J. Estimating Global Biodiversity: The Role of Cryptic Insect Species. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 391–403, 2023. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syac069>

LOPES, Ana Paula Mendes *et al.* Biological Control Associated With Plant Nutrition for *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus brachyurus* Management in Soybean. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 149, 2019. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n1p149>

MAHMOOD, Saquib *et al.* Novel insecticidal chitinase from the insect pathogen *Xenorhabdus nematophila*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 159, p. 394–401, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.078>

MANCILLAS-PAREDES, Jesús Manuel *et al.* Proteases and Chitinases Induced in *Beauveria bassiana* during Infection by *Zabrotes subfasciatus*. **Southwestern Entomologist**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 125, 2019. <https://doi.org/10.3958/059.044.0114>

MARTÍNEZ-ZAVALA, Sheila A. *et al.* Chitinases of *Bacillus thuringiensis*: Phylogeny, Modular Structure, and Applied Potentials. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 3032, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03032>

MEHRKHOUS, Fariba *et al.* Effects of plant-based insecticide, *Bino2* and entomopathogenic fungi on the digestion, detoxification, and chitinase activity of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). **BIOLOGICAL CONTROL OF PESTS AND PLANT DISEASES**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 73–94, 2023. <https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.375379.342>

MIAMOTO, Angélica *et al.* Alternative products for *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne javanica* management in soya bean plants. **Journal of Phytopathology**, [s. l.], v. 165, n. 10, p. 635–640, 2017. <https://doi.org/10.1111/jph.12602>

MORAL, Rafael A; HINDE, John; DEMÉTRIO, Clarice G B. Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R : The **hnp** Package. **Journal of Statistical Software**, [s. l.], v. 81, n. 10, 2017. <https://doi.org/10.18637/jss.v081.i10>

NAGPURE, Anand; CHOUDHARY, Bharti; GUPTA, Rajinder K. Chitinases: in agriculture and human healthcare. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 215–232, 2014. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.790874>

NEW, Tim R. **Insect Diversity, Declines and Conservation in Australia**. Cham: Springer International Publishing, 2022. (Fascinating Life Sciences). <https://doi.org/10.1007/978-3-030-90134-9>

OMKAR (org.). **Ecofriendly pest management for food security**. Amsterdam ; Boston ; Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier: [s. n.], 2016.

PALOMINO, Maria Mercedes *et al.* Draft Genome Sequence of the Probiotic Strain *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **Genome Announcements**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. e01421-14, 2015. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01421-14>

PASCHAPUR, Amit *et al.* Unraveling the Importance of Metabolites from Entomopathogenic Fungi in Insect Pest Management. *In*: KHAN, Md. Aslam; AHMAD, Wasim (org.). **Microbes for Sustainable Insect Pest Management**. Cham: Springer International Publishing, 2021. (Sustainability in Plant and Crop Protection). v. 17, p. 89–120. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67231-7_5

PRETSCHER, Julia *et al.* Yeasts from Different Habitats and Their Potential as Biocontrol Agents. **Fermentation**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 31, 2018. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020031>

PRICE, D. R. G. *et al.* A venom metalloproteinase from the parasitic wasp *Eulophus pennicornis* is toxic towards its host, tomato moth (*Lacanobia oleracae*). **Insect Molecular Biology**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 195–202, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2009.00864.x>

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 9 nov. 2024.

RAJENDRAN, T.P.; SINGH, Devendra. Insects and Pests. *In*: OMKAR (org.). **Ecofriendly Pest Management for Food Security**. San Diego: Academic Press, 2016. p. 1–24. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00001-4>

RAMOS, Gabryele Silva *et al.* Management of *Euschistus heros* with the release of *Telenomus podisi* in soybean in Brazil. **BioControl**, [s. l.], v. 69, n. 5, p. 529–537, 2024. <https://doi.org/10.1007/s10526-023-10235-0>

REDDY, Gadi V.P.; ZHAO, Zihua; HUMBER, Richard A. Laboratory and field efficacy of entomopathogenic fungi for the management of the sweetpotato weevil, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, [s. l.], v. 122, p. 10–15, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.07.009>

ROCHA, Gabriela Teodoro *et al.* Biocontrol potential of bacteria belonging to the *Bacillus subtilis* group against pests and diseases of agricultural interest through genome exploration. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s. l.], v. 116, n. 7, p. 599–614, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10482-023-01822-3>

RODRIGUES, Lucas Maniero; GARCIA, Adriano Gomes; PARRA, José Roberto Postali. Ecological zoning of *Euschistus heros* in Brazil based on the net reproductive rate at different temperatures and relative-humidity levels. **Journal of Economic Entomology**, [s. l.], v. 116, n. 4, p. 1178–1184, 2023. <https://doi.org/10.1093/jee/toad115>

RODRÍGUEZ-ROMERO, Hugo *et al.* Perspective Chapter: Secondary Metabolites of Entomopathogens as Biotechnological Tools for the Biological Control of Agricultural Insect Pests. In: ALI, Habib *et al.* (org.). **Insecticides - Advances in Insect Control and Sustainable Pest Management**. [S. l.]: IntechOpen, 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.111465>

SAHAI, A.S.; MANOCHA, M.S. Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. **FEMS Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 317–338, 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00004.x>

SAMPSON, Mark N.; GOODAY, Graham W. Involvement of chitinases of *Bacillus thuringiensis* during pathogenesis in insects. **Microbiology**, [s. l.], v. 144, n. 8, p. 2189–2194, 1998. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-8-2189>

SÁNCHEZ-PÉREZ, Lluvia De Carolina *et al.* Enzymes of Entomopathogenic Fungi, Advances and Insights. **Advances in Enzyme Research**, [s. l.], v. 02, n. 02, p. 65–76, 2014. <https://doi.org/10.4236/aer.2014.22007>

SANTOS, Thais L. Braga *et al.* Intraspecific and interspecific interaction and fitness cost of stink bugs *Euschistus heros*, *Diceraeus melacanthus*, and *Piezodorus guildinii* in soybean. **Pest Management Science**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 661–668, 2024. <https://doi.org/10.1002/ps.7794>

SAVARY, Serge *et al.* The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature Ecology & Evolution**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 430–439, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

SAYADI, Mehran *et al.* Malathion toxicity attenuated by *Lactobacillus bacteria* via alteration of oxidative stress, lipid peroxidation, and inflammation: a possible mechanism against organophosphorus insecticide. **Toxin Reviews**, [s. l.], p. 1–11, 2024. <https://doi.org/10.1080/15569543.2024.2367979>

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B.; CHEN, H. J. A Comparative Study of Various Tests for Normality. **Journal of the American Statistical Association**, [s. l.], v. 63, n. 324, p. 1343–1372, 1968. <https://doi.org/10.1080/01621459.1968.10480932>

SHAREEFDEEN, Zarook; ELKAMEL, Ali. Toxic and Environmental Effects of Neonicotinoid Based Insecticides. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 3310, 2024. <https://doi.org/10.3390/app14083310>

SILVA, Aline Nunes Da. **Susceptibilidade diferencial de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) a espécies de >i/i<: influência do feromônio de alarme no processo**

infectivo. 2023. Mestrado em Entomologia - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2023. <https://doi.org/10.11606/D.11.2023.tde-01112023-130856>

SILVA, Rafael Azevedo *et al.* Temporal variation and spatial distribution of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) during the soybean grain formation period. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. e6411931102, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31102>

SINGH, Gursharan; ARYA, Shailendra Kumar. Antifungal and insecticidal potential of chitinases: A credible choice for the eco-friendly farming. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 20, p. 101289, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101289>

SINHA, Kaushal K.; CHOUDHARY, Ajoy Kr.; KUMARI, Priyanka. Entomopathogenic Fungi. *In*: OMKAR (org.). **Ecofriendly Pest Management for Food Security**. San Diego: Academic Press, 2016. p. 475–505. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00015-4>

SNODGRASS, R. E.; EICKWORT, George C. **Principles of Insect Morphology**. [S. l.]: Cornell University Press, 1994. <https://doi.org/10.7591/9781501717918>

SOUZA, Priscila M. Paiva *et al.* Enzyme-support interactions and inactivation conditions determine *Thermomyces lanuginosus* lipase inactivation pathways: Functional and florescence studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 191, p. 79–91, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.061>

SPENCER, Joseph L.; HUGHSON, Sarah A. Insect resistance to crop rotation. *In*: **INSECT RESISTANCE MANAGEMENT**. [S. l.]: Elsevier, 2023. p. 191–244. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823787-8.00014-3>

THARANATHAN, Rudrapatnam N.; KITTUR, Farooqahmed S. Chitin — The Undisputed Biomolecule of Great Potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 61–87, 2003. <https://doi.org/10.1080/10408690390826455>

TIBOLA, Cristiane Maria *et al.* Monitoring Resistance of *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) to Insecticides by Using Encapsulated Artificial Diet Bioassay. **Insects**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 599, 2021. <https://doi.org/10.3390/insects12070599>

TINOCO, Tatiane José; SILVA, Priscila Loire; ROCHA, Ana Paula Soares. Manejo integrado de pragas e doenças em sistemas agrícolas. **Revista Contemporânea**, [s. l.], v. 3, n. 11, p. 22675–22697, 2023. <https://doi.org/10.56083/RCV3N11-135>

VELIZ, Esteban A. *et al.* Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. **AIMS Microbiology**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 689–705, 2017. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.689>

WANG, Dong *et al.* Influence of sodium chloride on thermal denaturation of a high-salt-tolerant neutral protease from *Aspergillus oryzae*. **Food Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 22, n. 5, p. 1–7, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0223-5>

WICKHAM, Hadley. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. 2nd ed. 2016ed. Cham: Springer International Publishing: Imprint: Springer, 2016. (Use R!). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>

WU, Jian-Jian *et al.* Disruption of ecdysis in *Leptinotarsa decemlineata* by knockdown of chitin deacetylase. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 443–452, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.006>

YURLIASNI, Yurliasni *et al.* Viability of *Lactobacillus acidophilus* in acidophilus milk during frozen storage and its potential to lower cholesterol: an In vivo study. **International Microbiology**, [s. l.], 2024. <https://doi.org/10.1007/s10123-024-00605-8>

ZHANG, Shuwu *et al.* Mechanisms and Characterization of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in Suppressing Nematodes (*Heterodera avenae*) in Wheat. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 8, p. 1491, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01491>