Seminário Parcial de Acompanhamento e Avaliação

Banco de ativos biotecnológicos para o desenvolvimento de produtos para o controle de pragas do Distrito Federal

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Equipe e instituição:

Rose Monnerat – EMBRAPA/CENARGEN

Jaime Santana – UNB

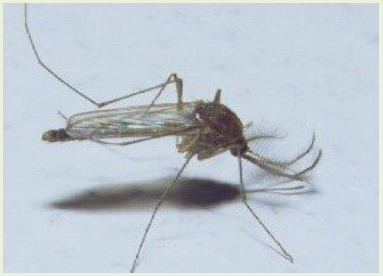
Simoni Dias - UCB

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Breve contextualização do projeto e relevância do tema

No Distrito Federal e entorno, assim como em todo o país, o controle de pragas é um aspecto fundamental, tanto na saúde humana quanto na produção agrícola e pecuária.



C. quinquefasciatus

Aedes aegypti

Rhizoctonia solani

Meloidogyne spp.

Helicoverpa armigera

Chrysodeixis includens

Euschistus heros

Alphitobius diaperinus

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Breve contextualização do projeto e relevância do tema

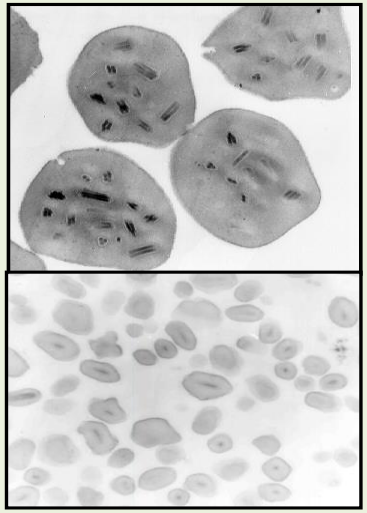
Ativos para controle de pragas e doenças

Microorganismos

Feromônios

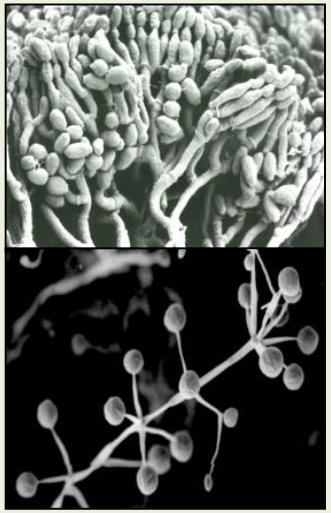
Extratos de plantas

Vírus



Bactérias

Fungos



CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Breve contextualização do projeto e relevância do tema

Mercado de biodefensivos no Brasil, em 2020, foi de R$1.179 bilhões, um crescimento de 70% em relação a 2019.

Comparada à indústria de agrotóxicos convencionais, a indústria de biocontrole está crescendo 5,3 vezes mais rápido.

O Brasil é o quarto país com melhor desempenho na produção de bioprodutos, respondendo por 7% da comercialização mundial, liderado pelos Estados Unidos (37%), Espanha (14%) e Itália (10%).

10 milhões de hectares

Programa Nacional de Bioinsumos

Breve contextualização do projeto e relevância do tema

Razões para o crescimento do mercado

o custo de desenvolvimento de um produto biológico, estimado em 2 a 10 mil dólares, comparado ao químico com custo estimado em 250 mil dólares;

a especificidade dos agentes de controle biológico que atuam apenas no alvo;

a sustentabilidade do método por apresentar menor impacto ambiental e aos seres vivos, além de não ser poluente;

a seleção de pragas resistentes aos produtos químicos e aos cultivos transgênicos;

a baixa probabilidade de seleção de insetos resistentes aos agentes de controle biológico, e

a exigência do mercado consumidor, preocupado com os efeitos adversos dos produtos químicos e seus resíduos.

Objetivos propostos x realizados

Objetivos	% alcance
Ter selecionado pelo menos trinta ativos à base de microrganismos, cinco peptídeos e tres óleos essenciais/compostos voláteis de plantas para controle de mosquitos vetores (*Aedes aegypti e Culex quinquefasciatus*).	90
Ter observado a alteração do perfil proteico do intestino de larvas de *A. aegypti e C. quinquefasciatus* ocasionada pelos microrganismos, peptídeos e óleos essenciais que apresentarem melhor ação larvicida, e assim, propor um mecanismo de ação para essas moléculas.	70
Ter selecionado pelo menos trinta ativos à base de microrganismos e cinco peptídeos para controle de lagartas (*Spodoptera frugiperda, Helicoverpa armigera e Chrysodeixis includens*)	90
Ter selecionado pelo menos trinta ativos à base de microrganismos e cinco peptídeos para controle de coleopteros (*Anthonomus grandis*).	90
Ter caracterizado, avaliado e disponibilizado pelo menos trinta isolados de *Trichoderma* para controle de doenças de plantas.	90
Ter selecionado pelo menos cinco ativos à base de microrganismos e dois peptídeos para controle de nematoides.	90
Ter sequências genômicas depositadas no GenBank (NCBI) de cinco novos isolados virais de *Chrysodeixis includens* (ChinNPV) e cinco isolados de *Helicoverpa armigera* (HearNPV)	100
Ter disponibilizado metodologia para caracterização bioquímica de isolados de fungos dos gêneros *Beauveria e Lecanicillium*, depositados na Coleção de Fungos de Invertebrados, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, através de espectometria de massa (MALDI-TOF)	100
Ter identificado pelo menos mais dez novos semioquímicos de importantes insetos-praga da agricultura do DF que tenham ação para o manejo de pragas ou seus inimigos naturais.	100
Ter implementado um banco in silico de semioquímicos de insetos e plantas dentro do sistema Alelo	100
Ter implementado um banco com extratos e semioquímicos sintéticos	80
Ter disponibilizado todas as informações no sistema Alelo	80

Materiais e Métodos

- Nenhuma modificação metodológica foi realizada exceto pela UnB que ao invés de adquirir extratos de plantas decidiu extrair diretamente os extratos

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Atividades planejadas x realizadas

Atividades	Ano 1 (2018)				Ano 2 (2019)				Ano 3 (2020)				Ano 4 (2021)			
	trimestres															
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Criação de Insetos para fornecimento de larvas para bioensaios	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Bacterias para controle de insetos e nematoides (caracterização bioquímica, molecular, sequenciamento)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fungos para controle de insetos (caracterização por MALDI-TOF)			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Virus para controle de insetos (caracterização morfologica, molecular, sequenciamento)				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fungos para para controle de fitopatogenos (caracterização molecular e sequenciamento)				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Peptídeos para controle de insetos e de fitopatógenos					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Óleos essenciais e compostos majoritários para controle de insetos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Semioquímicos para controle de insetos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Banco in silico de semioquimicos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Depósito dos dados na base Alelo	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Realização do curso de controle biológico de pragas				x				x				x				x
Oferta da Disciplina no Programa de Pós-Grad em Fitopatologia da UnB			x				x				x				x	
Realização do curso sobre semioquímicos de insetos		x				x				x				x		
Participação em simpósios (Controle Biológico e Entomologia)				x				x				x				x
Realização de cursos sobre a qualidade		x				x				x				x		
Realização de reuniões técnicas				x				x				x				x
Elaboração de relatórios parciais				x				x				x				x
Elaboração de relatório final																x

Recurso aprovado x gasto

- Relatar montante aprovado e montante gasto até o momento.

EXECUÇÃO FINANCEIRA			
	Recursos Liberados	Recursos Gastos	Saldo
Capital	30.201,00	6.307,72	23.893,28
Custeio	678.000,00	401.776,63	276.223,37
Bolsa	72.000,00	30.400,00	41.600,00
Saldo	780.201,00	438.484,35	341.716,65

Resultados parciais alcançados

Criação de insetos

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Resultados parciais alcançados

Bacterias para controle de insetos e nematoides

1000 estirpes insetos

300 estirpes nematoides

15 L. sphaericus x *C. quinquefascitus*	→	*1 sequenciada*
15 B. thuringiensis x *A. aegypti*	→	*3 sequenciadas*
35 B. thuringiensis X *C. includens* *H. armigera* *S. frugiperda*	→	*5 sequenciadas*
32 B. *thuringiensis* x A. grandis	→	*8 sequenciadas*

9 Bacillus spp. x *M. incognita*	→	*1 sequenciada*

Coleção preservada por 2 métodos e totalmente inserida no sistema AleloMicro

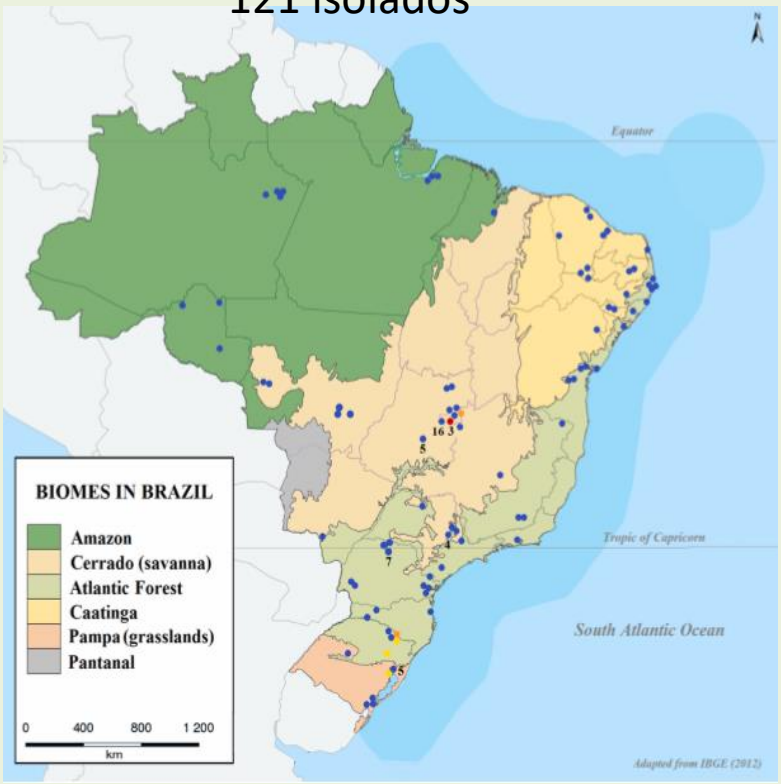
CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Resultados parciais alcançados

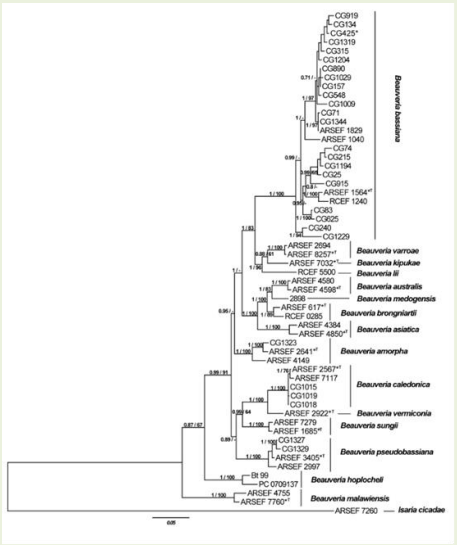
Fungos para controle de insetos - Disponibilizar metodologia para caracterização bioquímica de isolados de fungos dos gêneros *Beauveria* e *Akanthomyces* (=*Lecanicillium*), depositados na Coleção de Fungos de Invertebrados, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, através de espectometria de massa (MALDI-TOF)

121 isolados



Quatro espécies do gênero *Beauveria* foram identificadas:
B. bassiana s.str. (93,4%; azul)
B. caledonica (2,5%; marrom)
B. pseudobassiana (2,5%; amarelo)
B. amorpha (1,6%; laranja)

Banco de dados Alelo atualizado com as informações dos 121 isolados !

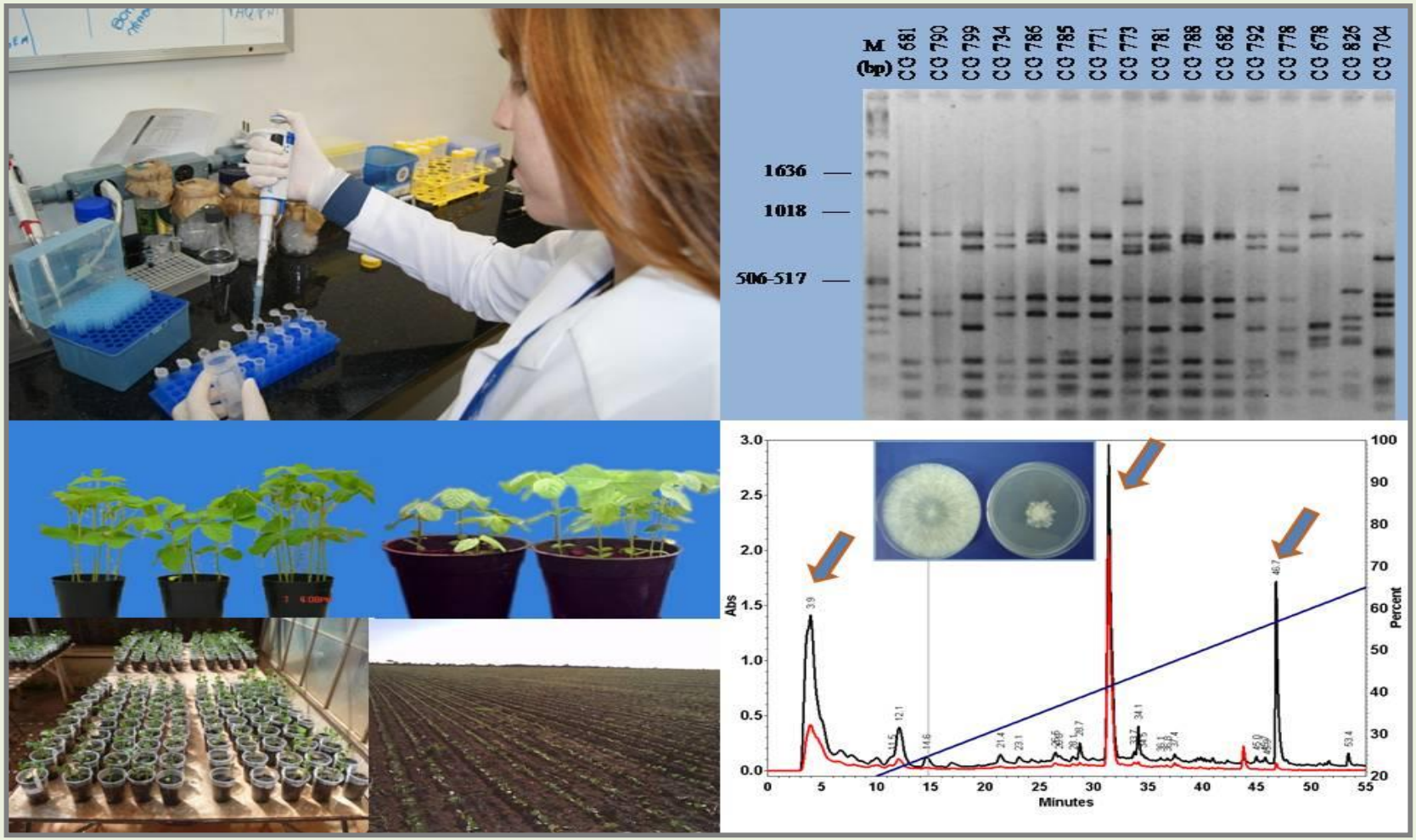


CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Resultados parciais alcançados

Fungos para controle de fitopatogenos (90 isolados) – 5 promissores *Sclerotinia* sclerotiorum, *Sclerotium rolfsii* e *Fusarium* spp.



CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Resultados parciais alcançados

Virus para controle de insetos

17 isolados de ChinNPV foram multiplicados em insetos *C. includens*

7 foram selecionados e dois: ChinNPV-MG.B e ChinNPV-MG.A foram os mais patogênicos em larvas *C. includens*.

In vivo: Os isolados ChinNPV-MG.B, ChinPV-MG.A e ChinNPV-MT.B foram selecionados como os mais patogênicos em larvas *C. includens*.

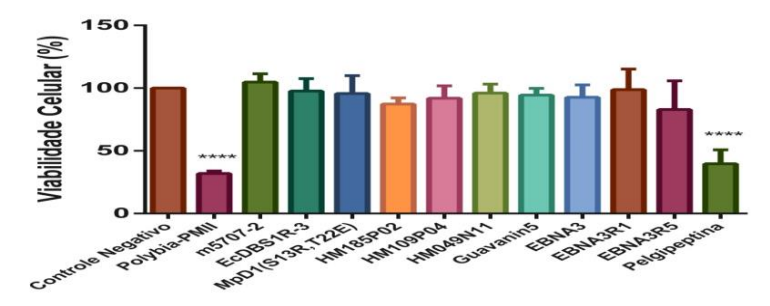
In vitro: As linhagens Tn-5B1-4, SF-21AE foram as mais susceptíveis aos isolados ChinNPV-MG.B, ChinNPV-MG.A, ChinNPV-MT.B e PsinNPV-IE. As linhagens celulares testadas foram: UFL-AG-286 (*Anticarsia gemmatalis*), IPLB-SF-21AE, Sf9 (*Spodoptera frugiperda*), BTI-Tn-5B1-4, TN-368 (*Trichoplusia ni*), BM-5 (*Bombyx mori*), IPLB-LD-652Y (Lymantria dispar).

Os isolados foram sequenciados e inseridos na base de dados do AleloMicro

Resultados parciais alcançados

- Peptideos para controle de *C. quinquefascitus, A. aegypti, Spodoptera frugiperda*.

29 peptídeos oriundos da Coleção de Ativos da UCB foram avaliados



Inseto	Amostra	CL50 (ng/ml)	Proporção	CL50 esperada (ng/ml)	CL50 observada (ng/ml)	Fator de Sinergismo
Aedes aegypti	S8	0,71	10	0,04	3,73	0,0100
	Pelgipeptina	7,04	90			
	Pelgipeptina + S8	7,75				
Culex quinquefasciatus	S260	2,32	64	55,28	0,747	74,0007
	Pelgipeptina	1,3	36			
	Pelgipeptina + S260	3,62				

	Polybia-MPII			Pelgipeptina		
Espécie	**100µM**	**10 µM**	**Controle Negativo**	**100 µM**	**10 µM**	**Controle Negativo**
Aedes aegypti	8%	0%	0%	100%	100%	0%
Culex quinquefasciatus	4%	0%	0%	100%	96%	0%

Espécie	Tratamento	Médias de diâmetro cefálico
Aedes Aegypti	Sem Pelgipeptina	0,341733
	Pelgipeptina 0,625 µM	0,263
Culex quinquefasciatus	Sem Pelgipeptina	0,389067
	Pelgipeptina 0,625 µM	0,2551

S. frugiperda

	Polybia-MPII 10 µM	Pelgipeptina 10 µM	Controle Negativo
Mortalidade	48,83%	25%	8%

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Resultados parciais alcançados

Inseticidas botanicos

Vetor	Produtos/ Frações	Estádio de desenvolvimento	CL_{50}/mg/L (IC 95%)
Musca Doméstica	LCC in natura	Ovo	85,1(83,3-88,2)[a**]
	LCC técnico	Ovo	98,7(91,2-101,1)[b]
	Ácido anacárdico	Ovo	84,9(82,2-86,6)[a]
	Cadanol	Ovo	104,5(96,3-120,1)[b]
	Cardol	Ovo	80,4(72,2-88,2)[a]

Vetor	Produtos/ Frações	Estádio de desenvolvimento	CL_{50}/mg/L (IC 95%)
Chrysomya megacephala	LCC in natura	Ovo	102,3(100,5-109,2)[b**]
	LCC técnico	Ovo	110,3(105,0-115,3)[b]
	Ácido anacárdico	Ovo	99,1(90,3-105,1)[ab]
	Cadanol	Ovo	188,3(180,2-193,5)[c]

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Resultados parciais alcançados

Semioquimicos

Espécie	Fonte dos semiooquimicos	Semioquímicos	Função dos semioquímicos
Anastrepha fraterculus	Machos	(Z)-3-nonen-1-ol, (E,Z)-3,6-nonadien-1-ol anastrefina, epianastrefina e (E,E)-suspensolide, (E,E)-a-farneseno	Feromônios atrativos a coespecíficos
Anastrepha fraterculus	Machos e fêmeas	(9E)-9-hexadecenoato de metila; hexadecanoato de metila; 10-heneicoseno; octadecanol; linoleato de metila; (9Z)-9-octadecenoato de metila; octadecanoato de metila; acetate de octadecila; (Z)-9-tricoseno; eicosanol; 3 acetate de eicosila.	Compostos das fezes (feromônio de marcação)
Zea mays	Genótipo Sintetico Spodopetra	(*E*)-2-hexenal, (Z)-3-acetato de hexenila, DMNT, (E)-β-farneseno, β-cariofileno, indol, salicilato de metila	Semioquímicos de plantas de milho atrativo ao Telenomus remus
Helicoverpa armigera	Fêmeas	(Z9)-hezadecenal, (Z11)-hexadecenal e hexadecanal.	Feromônio sexual
Conotrachelus humeropictus	Machos	Grandisol, grandlure II, citronelato de metila, ácido grandisoico e ácido citronélico.	Feromônio sexual
Coffea arabica	Frutos de café verde	(*E*,*E*)-α-farneseno, DMNT e TMTT	Semioquímicos com efeito negativo sobre o comportamento de busca de H. hampei.
Zea mays	Genótipo Sintetico Spodopetra	9 compostos voláteis emitidos por plants de milho com dano de herbivoria de lagartas de Spodoptera frugiperda.	Semioquímicos do milho atrativos para adultos machos e fêmeas de S. frugiperda
Mangifera indica	Inflorescência e frutos de manga Variedade Ubá e coquinho	6-metil-5-hepten-2-ona, mirceno, 2-metóxi-fenol, benzoato de metila e benzoato de etila	Compostos voláteis relacionados com odor da manga

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Informações adicionais

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Obrigada!!

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

fapdf
Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal