



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**ATHALINE GONÇALVES DINIZ**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO BIOINSETICIDA DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE  
ESPÉCIES *Fusarium incarnatum-equiseti* COMBINADOS A EXTRATOS DE  
*Paubrasilia echinata* NO CONTROLE DE *Dactylopius opuntiae***

**RECIFE**

**2017**

**ATHALINE GONÇALVES DINIZ**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO BIOINSETICIDA DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE  
ESPÉCIES *Fusarium incarnatum-equiseti* COMBINADOS A EXTRATOS DE  
*Paubrasilia echinata* NO CONTROLE DE *Dactylopius opuntiae***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patricia Vieira  
Tiago

Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup> Mariele Porto Carneiro  
Leão

**RECIFE**

**2017**

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Diniz, Athaline Gonçalves**

**Avaliação do efeito bioinseticida de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* combinados a extratos de *Paubrasilia echinata* no controle de *Dactylopius opuntiae* / Athaline Gonçalves Diniz- Recife: O Autor, 2017.**

**57 folhas: il., fig., tab.**

**Orientadora: Patricia Vieira Tiago**

**Coorientadora: Mariele Porto Carneiro Leão**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biologia de Fungos, 2017.**

**Inclui referências**

- 1. Fungos como agentes no controle biológico de pragas 2. Cochonilha 3. Pau-brasil I. Tiago, Patricia Vieira (orientadora) II. Leão, Mariele Porto Carneiro (coorientadora) III. Título**

**579.5**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CB-2017-268**

**ATHALINE GONÇALVES DINIZ**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO BIOINSETICIDA DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE  
ESPÉCIES *Fusarium incarnatum-equiseti* COMBINADOS A EXTRATOS DE  
*Paubrasilia echinata* NO CONTROLE DE *Dactylopius opuntiae***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 02/03/2017

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patricia Vieira Tiago / Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Micologia

---

Dr. Antônio Félix da Costa / Instituto Agronômico de Pernambuco

---

Dr.<sup>a</sup> Virginia Michelle Svedese / Universidade Federal do Vale do São Francisco

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Maria do Socorro e Romeu Leal pelo carinho, cuidado, amor e por toda a educação proporcionada a mim, sem eles eu não seria nada. Agradeço também às minhas irmãs Aline, Ataine, Adricia e Margarida, assim como ao meu irmão Rennan, pelo incentivo e as palavras de força que me fizeram seguir em frente.

Ao meu namorado Sérgio, meu querido “namorado” por toda ajuda, atenção, compreensão e amor.

À minha orientadora, a professora Dr.<sup>a</sup> Patricia Vieira Tiago, que mesmo sem me conhecer me escolheu pra trabalhar com ela, confiou em mim e me ajudou a crescer, não só acadêmicamente mais como pessoa também.

À minha co-orientadora Dr.<sup>a</sup> Mariele Porto Carneiro Leão, “Mari” que assim como a professora Patricia confiou em mim e me ajudou sempre que precisei.

Ao Dr. Antônio Félix da Costa, “Professor Félix” que tive o prazer de conhecer no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), agradeço por toda ajuda dada a mim no período de licença maternidade da professora Patricia.

Agradeço também às amigadas que fiz no (IPA) e à Dr.<sup>a</sup> Luciana Gonçalves ou “Lu”, sempre tão simpática comigo, obrigada por ter sido uma das pessoas que também me ajudaram no período de licença da professora Patricia.

Agradeço pela amizade, carinho, atenção e ajuda de Thaiza e Fabíola, duas pessoas incríveis que convivi no IPA.

A Nazaré, por todo suporte durante os experimentos no IPA.

À minha turma de mestrado, em especial a Ana Rafaela e a Patricia Barbosa pelo carinho, atenção, incentivo e amizade.

Ao professor Róger e à professora Neiva e aos meus colegas de laboratório, Rafael, Amanda, Felipe, Ewerton, Ana Cláudia, Vanessa, Bárbara e Vinícius pelos momentos de descontração e pelas alegrias e tristezas partilhadas.

Não menos importante agradeço a Ana Carla, minha querida “Aninha”, a melhor coisa que me aconteceu no mestrado, uma pessoa incrível, humana, atenciosa, verdadeira, que sempre me ajudou nos momentos mais difíceis, essa pessoa fez a diferença na minha vida, obrigada por todos os conselhos, carinho, palavras de apoio, atenção e amizade.

A todos os que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Obrigada!

“Em algum lugar, algo incrível está esperando para ser descoberto”.

Carl Sagan.

## RESUMO

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*), adaptada às condições semiáridas da região Nordeste e utilizada na alimentação de animais, vem sofrendo com os danos ocasionados pela ação da cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*), inseto-praga que se alimenta da seiva vegetal acarretando a morte de plantações inteiras. Para o controle deste inseto os agricultores fazem uso de agrotóxicos, porém devido aos riscos decorrentes da utilização destes produtos, buscam-se alternativas de controle eficientes, seguras e de baixo custo. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo analisar a eficiência de extratos de *Paubrasila echinata* (= *Caesalpinia echinata*) combinados a cinco isolados do complexo de espécies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) no controle da cochonilha do carmim *in vitro* e em casa de vegetação. Os extratos aquoso e hidroalcoólico foram preparados na concentração a 30% e diluídos para as concentrações de 5, 10 e 20%. A influência dos extratos sobre os isolados do FIESC foi avaliada por meio da germinação, crescimento vegetativo e esporulação, seguindo-se da análise de compatibilidade pelo cálculo do Índice Biológico. Foram selecionados os seguintes tratamentos para os testes de patogenicidade contra o inseto: URM6777 + extrato aquoso 5%, URM6779 + extrato aquoso 20%, URM6776 e URM6777 + extrato hidroalcoólico 5% e URM6779 + extrato hidroalcoólico 20%. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. A combinação dos isolados do FIESC a extratos de *P. echinata* obteve valores de mortalidade inferiores aos registrados pelo uso individual dos isolados. No bioensaio *in vitro* com extrato aquoso os maiores valores de mortalidade corrigida foram obtidos pelo emprego individual dos isolados URM6779 (89,26 %) e URM6777 (88,99%). O mesmo ocorreu para o extrato hidroalcoólico, destacando-se o isolado URM6777 com mortalidade corrigida de 86,77%. Em casa de vegetação, o isolado URM6779 apresentou o maior valor de mortalidade corrigida (76,26%).

**Palavras-chave:** Cochonilha do carmim. Fungos entomopatogênicos. Pau-brasil. Controle combinado.

## ABSTRACT

The forage palm (*Opuntia ficus-indica*), adapted to the semi-arid conditions of the Northeast region and used in the feeding of animals, has been suffering from the damage caused by the action of the cochineal scale (*Dactylopius opuntiae*), an insect-plague that feeds on vegetable sap. Resulting in the death of entire plantations. For the control of this insect the farmers make use of agrochemicals, however due to the risks arising from the use of these products, efficient, safe and low cost alternatives of control are sought. Thus, the present work aimed to analyze the efficiency of extracts of *Paubrasila echinata* (= *Caesalpinia echinata*) combined with five isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) species complex in the control of cochineal scale *in vitro* and at greenhouse. The aqueous and hydroalcoholic extracts were prepared at the 30% concentration and diluted to the concentrations of 5, 10 and 20%. The influence of the extracts on the FIESC isolates was evaluated through germination, vegetative growth and sporulation, followed by the analysis of compatibility by calculation of the Biological Index. The following treatments were selected for the pathogenicity tests against the insect: URM6777 + 5% aqueous extract, URM6779 + 20% aqueous extract, URM6776 and URM6777 + 5% hydroalcoholic extract and URM6779 + 20% hydroalcoholic extract. The results were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test at 5% of probability. The combination of the FIESC isolates with *P. echinata* extracts obtained lower mortality values than those recorded by individual isolates. In the *in vitro* bioassay with aqueous extract the highest values of corrected mortality were obtained by the individual use of the isolates URM6779 (89.26%) and URM6777 (88.99%). The same occurred for the hydroalcoholic extract, standing out the isolate URM6777 with corrected mortality of 86.77%. In the greenhouse, isolate URM6779 had the highest corrected mortality (76.26%).

**Keywords:** Cochineal scale. Entomopathogenic fungi. Pau-brasil. Combined control.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A: Fêmeas adultas da cochonilha do carmim (ápteras) e B: Macho alado.....	17
Figura 2. Criação de <i>Dactylopius opuntiae</i> sobre cladódios da palma forrageira <i>Opuntiae ficus-indica</i> em casa de vegetação, no Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA).....	31
Figura 3. Cladódios de <i>Opuntiae ficus-indica</i> plantados em vasos para experimento em casa de vegetação, no início da infestação por <i>Dactylopius opuntiae</i> .....	34

## LISTA DE TABELAS

<p>Tabela 1. Viabilidade dos esporos (%) (média), crescimento vegetativo (cm) e número de esporos/cm<sup>2</sup>, produzidos por isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato aquoso de pau-brasil. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey (<math>P \leq 0,05</math>). * Dados originais. Para a análise estatística os dados foram transformados em <math>x=\sqrt{x}</math>.....</p>	38
<p>Tabela 2. Viabilidade dos esporos (%) (média), crescimento vegetativo (cm) e número de esporos/cm<sup>2</sup>, produzidos por isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de pau-brasil. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey (<math>P \leq 0,05</math>). *Dados originais. Para a análise estatística os dados foram transformados em <math>x=\sqrt{x}</math>.....</p>	38
<p>Tabela 3. Classificação da compatibilidade dos isolados do Complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) com o extrato aquoso e hidroalcoólico de pau-brasil, em diferentes concentrações (valor IB, segundo Rossi-Zalaf et al., 2008).....</p>	40
<p>Tabela 4. Percentual médio <math>\pm</math> erro padrão (E. P.) da mortalidade corrigida de insetos de <i>Dactylopius opuntiae</i> expostos ao extrato aquoso de pau-brasil, isolados do complexo <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) e extrato aquoso de pau-brasil + isolados do FIESC em laboratório.....</p>	41
<p>Tabela 5. Mortalidade corrigida (percentual médio <math>\pm</math> E. P.) de <i>Dactylopius opuntiae</i> pelo extrato hidroalcoólico de pau-brasil, isolados do complexo <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) e extrato hidroalcoólico de pau-brasil + isolados do FIESC em laboratório.....</p>	42
<p>Tabela 6. Mortalidade corrigida (percentual médio <math>\pm</math> E. P.) de <i>Dactylopius opuntiae</i> pelo extrato aquoso de pau-brasil, isolado do complexo <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) e extrato aquoso de pau-brasil + isolado do FIESC em casa de vegetação.....</p>	43

## LISTA DE ABREVIATURAS

FIESC	Complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>
IPA	Instituto Agronômico de Pernambuco
IB	Índice Biológico
MIP	Manejo integrado de pragas

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Ação de <i>Dactylopius opuntiae</i> sobre a palma forrageira <i>Opuntia ficus-indica</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Controle biológico de pragas.....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Controle de insetos-praga por fungos entomopatogênicos.....	19
2.2.2 Complexo de espécies de <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> como entomopatógenos.	22
2.2.3 Uso de extratos vegetais no controle de insetos-praga.....	23
2.2.4 Pau-brasil.....	26
2.2.5 Combinação de fungos e extratos vegetais no controle de insetos-praga.....	27
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>29</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Fungos.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Obtenção do extrato de pau-brasil.....</b>	<b>30</b>
<b>4.3 Obtenção e manutenção de <i>Dactylopius opuntiae</i> em casa de vegetação.....</b>	<b>31</b>
<b>4.4 Produção e quantificação do inóculo fúngico.....</b>	<b>31</b>
<b>4.5 Efeito do extrato de pau-brasil sobre a germinação, crescimento vegetativo e esporulação de isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>.....</b>	<b>31</b>
<b>4.6 Seleção dos isolados e concentrações dos extratos para os testes de patogenicidade.....</b>	<b>32</b>
<b>4.7 Avaliação da associação do extrato de pau-brasil e isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> no controle de <i>Dactylopius opuntiae</i>.....</b>	<b>33</b>
<b>4.8 Eficiência dos fungos e extratos no controle de <i>Dactylopius opuntiae</i> em casa de vegetação.....</b>	<b>33</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>5.1 Efeito do extrato de pau-brasil sobre a germinação, crescimento somático e esporulação de isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>5.2 Avaliação da associação do extrato de pau-brasil e isolados do complexo de</b>	

espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> no controle de <i>Dactylopius opuntia</i> .....	41
5.3 Eficiência dos fungos e extratos no controle de <i>Dactylopius opuntiae</i> em casa de vegetação.....	43
6 CONCLUSÕES .....	44
REFERÊNCIAS.....	45

## 1 INTRODUÇÃO

A palma forrageira *Opuntia ficus-indica* (L. Miller) é uma espécie xerófila biologicamente adaptada às variações de temperatura em ambientes áridos e semiáridos com grande potencial de exploração, devido as suas múltiplas utilidades (Barbera, 2001; Souza, 2012). Seus cladódios são empregados na alimentação animal na forma de ração, os frutos apresentam um forte sabor adocicado, são suculentos e ricos em compostos nutricionais como o ácido ascórbico, polifenóis, aminoácidos, sais minerais e vitaminas, sendo utilizados também na alimentação humana (Barbera, 2001; Leo et al., 2010; Özcan e Al Juhaimi, 2011). Entretanto, os produtores de palma forrageira vêm sofrendo prejuízos significativos, devido aos ataques da cochonilha *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae).

*Dactylopius opuntiae* parasita os cladódios, agrupando-se em colônias cobertas por um material ceroso, mantendo-os protegidos do sol. Este inseto se fixa ao vegetal, inoculando toxinas e sugando a seiva, resultando no enfraquecimento da planta, amarelecimento, queda dos cladódios e, em ataques mais severos, na morte de toda a planta (2001; Carvalho, 2005; Chiacchio, 2008). Como forma de controlar as cochonilhas, produtores de palma fazem uso de inseticidas químicos que, quando aplicados, provocam danos ao agroecossistema, afetam espécies-pragas e organismos vivos, ocasionando a seleção de populações resistentes, além da contaminação por resíduos tóxicos do ambiente e o comprometimento de lençóis freáticos (Gonçalves, 1997; Oliveira et al., 1999; Roel, 2001; Silva, 2013).

A utilização de extratos de plantas no controle de insetos-praga pode ser uma opção, tendo em vista que mais de duas mil espécies destacam-se por apresentar substâncias químicas com potencial inseticida altamente eficiente no controle de pragas, tornando-se uma alternativa natural que pode ser empregada como um método de controle eficaz, sem causar danos ao meio-ambiente (Chagas et al., 2016). Efeitos satisfatórios foram relatados por Lopes, (2013) que, ao utilizar extratos de folhas e vagens de *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) (= *Caesalpinia ferrea*) contra *D. opuntiae*, demonstrou elevada eficiência na mortalidade desse inseto. Luna et al. (2005) demonstraram significativa atividade larvicida do extrato etanólico das folhas de *Paubrasilia echinata* (= *Caesalpinia echinata*) contra ovos do *Aedes aegypti*.

Dentre os agentes de controle biológico, os fungos entomopatogênicos se destacam, sendo capazes de infestar um grande número de hospedeiros nos mais variados ambientes (Hajek e St. Leger, 1994). Além de controlar vários estágios de desenvolvimento do hospedeiro e penetrar por diversas vias através do tegumento dispersando-se horizontalmente (Alves e Lopes 2008), possuem grande variabilidade genética, sendo esta considerada uma das

principais vantagens da utilização de fungos entomopatogênicos no controle de insetos-praga (Alves, 1998; Brito, 2011). *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) é um complexo de espécies, o qual apresenta um grande número de espécies parasitas de insetos, tendo como hospedeiros insetos das ordens Hemiptera, Lepidoptera e Orthoptera (O'Donnell et al., 2012).

A combinação de extratos vegetais com fungos entomopatogênicos pode potencializar a ação destes biocontroladores contra organismos praga (Landa e Bohata, 1999; Filotas et al., 2005; Mohan et al., 2007; Islam et al., 2010; Bontempo et al., 2011; Nana et al., 2012; Gomes, 2012; Silva, 2015; Santos et al., 2015; Santos, 2016). Extratos de folhas de mamona combinados com alguns isolados do FIESC (Santos et al., 2015), assim como extratos de folhas de mastruz (Velez, 2016) foram eficientes no controle da cochonilha do carmim. Na busca de formas alternativas de controle que sejam de fácil acesso e aplicabilidade a agricultores da região semiárida do Nordeste brasileiro, a combinação de isolados do FIESC e extratos de pau-brasil poderá ser mais uma opção de controle da cochonilha do carmim.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Ação de *Dactylopius opuntiae* sobre a palma forrageira *Opuntia ficus-indica*

*Opuntia ficus-indica* é uma planta de origem Mexicana que se encontra amplamente distribuída pela América Central, América do Sul, Austrália, África do Sul (Leo et al., 2010) e países mediterrâneos (Santos, 2013). O gênero *Opuntiae* foi introduzido pela primeira vez no Brasil pelos portugueses em meados do século XVIII, com o objetivo de criar *Dactylopius opuntiae*, conhecido por cochonilha do carmim, para obtenção do pigmento carmim, o qual era empregado nas indústrias de roupas, cosméticos, alimentos, bebidas, medicamentos e pinturas. Entretanto, o objetivo não foi alcançado e a planta tornou-se ornamental, passando posteriormente a ser utilizada como forragem animal, graças as suas características nutricionais e morfofisiológicas adaptadas ao clima semiárido (Alves et al., 2008).

A palma forrageira *O. ficus-indica* garante a alimentação e sobrevivência dos rebanhos de bovinos, caprinos e ovinos nos longos períodos de estiagens da região Nordeste do Brasil, contribuindo com as atividades pecuárias de leite e de corte (López et al., 2006; Santos et al., 2006; Lima et al., 2011). Além da alimentação animal, a palma também é empregada na alimentação humana como um tipo de verdura, na forma de farinha como suplemento alimentar rico em fibras, bem como o fruto conhecido por figo da Índia, que pode ser consumido *in natura* ou desidratado, ou ainda, na forma de polpa, suco concentrado ou em bebidas lácteas coradas por betalainas, substâncias extraídas do fruto (Sáenz-Hernandez,

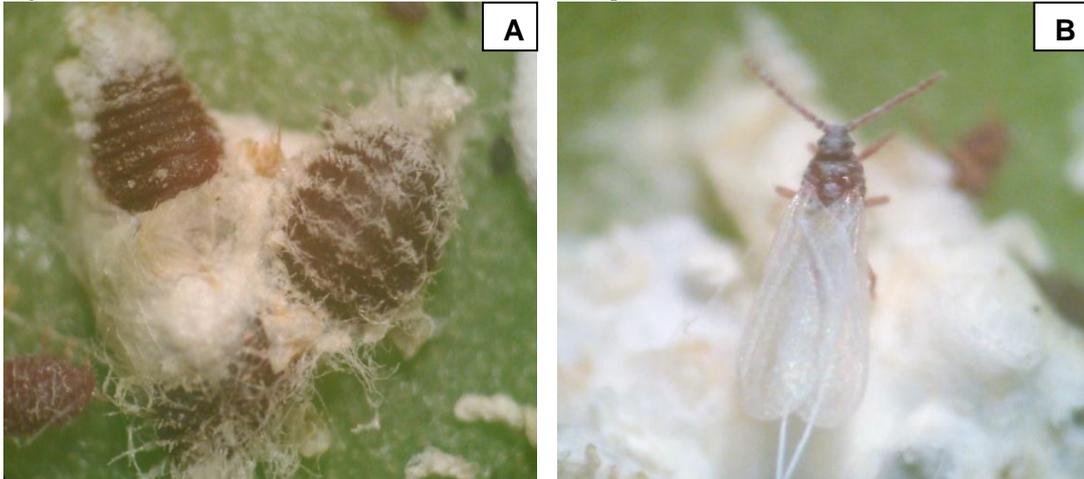
2005). Esta cactácea pode também ser empregada na fabricação de xampus e sabonetes e estudos farmacológicos indicam o seu uso no tratamento de úlceras, distúrbios gastrointestinais, diabetes mellitus, hiperlipidemia e obesidade (García et al., 2004; Martins, 2011), blefarites, conjuntivites, psoríase, eczemas, edemas, dores musculares (Cunha, et al., 2003), afecções cutâneas, inflamações do aparelho respiratório, fadiga, dores reumáticas, problemas no fígado, fragilidade capilar (Agozzino et al., 2005; Martins, 2011), cistites (Chaves, 2008) e cólicas intestinais (Cunha, et al., 2003). Além das aplicações citadas, a palma pode ser utilizada na produção de biomassa destinada a fins energéticos (Almeida et al., 2011) e na cobertura e proteção do solo ou ainda, como cerca viva (Valdez, 2001).

A partir dos anos 2000, plantações de palma vêm sendo dizimadas pela cochonilha do carmim, que surgiu como praga, tornando-se uma ameaça para a economia de agricultores e pecuaristas do semiárido nordestino, especialmente nos Estados de Pernambuco, Paraíba, Ceará, Rio Grande do Norte e Alagoas, alcançando até 100% de perda na produção (Santos, et al., 2006; Chiacchio, 2008). A origem da cochonilha como praga é controversa, há relatos de que este inseto foi introduzido no Nordeste por pesquisadores do IPA (Instituto Agrônomo de Pernambuco) para realização de estudos no município de Sertânia, onde o mesmo se disseminou por plantações vizinhas, fugindo ao controle dos pesquisadores (Pinto, 2015). Entretanto, para alguns o gênero *Dactylopius* era nativo da Caatinga, constituindo-se como praga ao tornar a palma sua planta hospedeira (Santos, 2009). O fato é que o inseto é responsável por grandes prejuízos econômicos no Nordeste brasileiro, com perdas de até 100 mil hectares cultivados de cactáceas (Lopes et al., 2009; Petter, 2010).

A cochonilha do carmim é um inseto fitófago de fácil disseminação que se instala nos cladódios da palma forrageira *O. ficus-indica* atuando como parasita (Flores e Tekelenburg, 2001; Falcão, 2012), o mesmo possui metamorfose completa, tendo como uma de suas principais fases de desenvolvimento as ninfas migrantes que se locomovem rapidamente para as bordas dos cladódios onde são facilmente disseminadas por agentes dispersores. Ao se fixarem, as ninfas passam por vários estágios (instares), originando fêmeas e machos adultos capazes de copular (Chiacchio, 2008). As fêmeas são ápteras, de aspecto ovalado, medindo cerca de 2,81mm de comprimento por 1,81mm de largura, o aparelho bucal é do tipo picador sugador, sua coloração é marrom avermelhada (Figura 1) devido à presença do ácido carmínico, o qual dá origem ao corante natural de cor vermelha e alto valor comercial. Diferente das fêmeas, os machos são alados e medem cerca de 2,2 a 4,8mm de comprimento e 1,3 a 1,5 mm de largura, com asas longas e delicadas, os mesmos não possuem aparelho bucal e vivem apenas quatro dias, morrendo logo após a cópula (Longo e Rapisarda, 2001; Falcão,

2012) (Figura 1). No ambiente natural possuem um ciclo de vida de cerca de 90 dias, porém de acordo com observações feitas por Warumby et al., (1998), em laboratório o ciclo de vida destes insetos é de 35 dias no verão e 45 dias no período de inverno. A oviposição tem uma duração de 15 dias, já a duração das formas migrantes ou ninfas de primeiro instar é de 24 horas, período que corresponde à disseminação da praga no campo.

Figura 1. A: Fêmeas adultas da cochonilha do carmim (ápteras) e B: Macho alado.



Fonte: Diniz A. G., 2016.

Mediante mecanismos de sucção, as cochonilhas se alimentam da seiva da planta e inoculam toxinas nas raquetes de palmas sadias, causando-lhes danos como a clorose que é o amarelecimento da planta, bem como o apodrecimento, tombamento e por fim a morte do vegetal. Além disso, em associação com os insetos, é comum observar a presença de agentes patogênicos, como fungos e bactérias, que atuam sinergicamente com o inseto-praga causando podridões (Falcão, 2012). Quando não tratada, a ação da cochonilha sobre *O. ficus-indica* é devastadora, acarretando na morte de toda uma área cultivada. Como medida de controle, produtos químicos são empregados visando frear a ação das cochonilhas sobre a palma forrageira, porém o uso sem orientação e de forma desordenada acarreta em prejuízos maiores para o produtor de palma, bem como para a saúde dos animais e humanos, além de afetar o agroecossistema devido às contaminações por resíduos tóxicos liberados no ambiente (Silva, 2013).

## 2.2 Controle biológico de pragas

O termo controle biológico foi utilizado pela primeira vez no ano de 1919 pelo pesquisador Harry S. Smith, para se referir ao uso de inimigos naturais no controle de insetos-

praga (Berti Filho e Ciociola, 2002; Silva e Brito, 2015). Logo, o controle biológico é definido como sendo um evento natural onde inimigos naturais regulam populações de organismos tidos como pragas, atacando os vários estágios do ciclo de desenvolvimento destes organismos (Lopes, 2013). Dessa forma, a presença de controladores naturais é determinada pela regulação de uma população sob certos limites, e em certos períodos de tempo, por meio da combinação de fatores adequados (Debach e Rosen, 1991; Chagas et al., 2016). Dentre os fatores que influenciam na ocorrência de inimigos naturais destacam-se a abundância e a qualidade das presas (Oliveira et al., 2002), assim como os fatores ecológicos, como por exemplo, a temperatura e umidade relativa que possuem ação direta sobre o desenvolvimento e comportamento dos insetos (Castro, 2011).

Os inimigos naturais de insetos são os agentes de controle biológico, derivados de classes de organismos que incluem predadores, parasitas e patógenos, onde os predadores e parasitas são tidos como entomófagos, enquanto que os patógenos são os entomopatógenos (Costa et al., 2006). Todas as espécies vivas sofrem ação de inimigos naturais, que se alimentam delas, e conseqüentemente, regulam sua densidade populacional, fato observado por Linnaeus em 1760, o qual afirmava que todo organismo vivo tem um inimigo natural (Silva e Brito, 2015). Os primeiros relatos da existência de inimigos naturais como biocontroladores ocorreram no século III pelos chineses, quando estes utilizaram formigas predadoras sobre inimigos naturais dos citros. A partir de 1830, micro-organismos como fungos, bactérias e protozoários foram identificados como sendo os agentes causais de doenças em insetos, no entanto, a primeira tentativa de controle de insetos utilizando estes patógenos ocorreu somente no ano de 1870 (Gallo et al., 2002; Onofre et al., 2001; Lazzarini, 2005). Os grupos de micro-organismos mais importantes para o controle biológico de insetos são os fungos, vírus e nematoides, sendo que, dentre esses grupos de organismos, os fungos são os responsáveis por aproximadamente 80% das enfermidades nos insetos (Alves, 1998; Rheinheimer, 2010).

Price et al., (2011) abordaram o controle biológico de pragas como sendo de três maneiras distintas: controle biológico clássico, controle biológico aumentativo ou aplicado e controle biológico natural ou conservativo. No controle biológico clássico é realizada a importação e colonização de parasitoides ou predadores, objetivando-se controlar pragas eventualmente nativas, esperando-se que o inimigo natural introduzido se estabeleça na área e controle as populações de insetos-praga (Silva e Brito 2015). O controle biológico aumentativo ou aplicado tem por objetivo principal possibilitar o aumento na população de inimigos naturais nativos ou introduzidos (produzidos em laboratório), visando à redução rápida da praga para o seu nível de equilíbrio (Parra et al., 2002; Price et al., 2011). Enquanto que o controle

biológico natural ocorre naturalmente nos diferentes ecossistemas naturais ou ambientes ainda não modificados pelo homem. O mesmo pode ocorrer por meio da manipulação do ambiente para criar condições que favoreçam o estabelecimento de inimigos naturais nos agroecossistemas, seja pela remoção de fatores adversos ou pelo fornecimento de requisitos para os inimigos naturais (Barbosa, 1998; Fraga, 2016).

Alves (1998) descreve diversas vantagens do controle biológico contra pragas agrícolas, tais como: a diminuição nos riscos à saúde do homem e outros animais; a produção de efeitos secundários contra os insetos, como a redução da oviposição, perda de viabilidade dos ovos ou ainda, o aumento da sensibilidade a outros agentes de controle; a especificidade ao inseto praga não acarretando em danos aos inimigos naturais; o estabelecimento de um controle constante de modo que as populações de pragas se mantenham sob controle após contínuas aplicações; a possibilidade de combinação com inseticidas químicos ou naturais permitindo uma ação sinérgica; a diminuição de resistência; e os métodos de produção por meio de processos fermentativos simples e com matérias primas de baixo custo.

O destaque da utilização do controle biológico no Manejo integrado de pragas (MIP) se deve à crescente preocupação em diminuir os efeitos do controle químico sobre o meio ambiente, homem e animais visando o restabelecimento do equilíbrio natural (Ballal e Verghese, 2015). O desenvolvimento de pesquisas na área do controle biológico, juntamente com a mudança na mentalidade dos produtores agrícolas, tem demonstrado o quanto é possível o emprego de inimigos naturais contra insetos-praga (Scopel e Roza-Gomes, 2011), sendo esta uma prática vantajosa em termos de custo-benefício (Bale et al., 2008). Desta forma, a produção agrícola vem tomando um novo direcionamento ao tentar desenvolver práticas exequíveis de menor impacto ambiental no combate a pragas, utilizando métodos alternativos que proporcionem a substituição ou, pelo menos, a redução de defensivos químicos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana.

### 2.2.1 Controle de insetos-praga por fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos são micro-organismos naturalmente encontrados em diversos ambientes, incluindo lavouras de produção agrícola e ecossistemas naturais. Estes organismos são capazes de infestar um grande número de insetos-praga mantendo os níveis de insetos em equilíbrio por meio de epizootias naturais, o que possibilita o seu uso no controle biológico de pragas (Alves, 1998). Entretanto, a ocorrência natural e a permanência de fungos

entomopatogênicos em um determinado ambiente depende de diversos fatores, como a localização geográfica, clima, habitat, altitude, pH do solo e a presença de hospedeiros primários ou alternativos (Inglis et al., 2001; Medo e Cagan, 2011). Além destes fatores, a utilização de agrotóxicos pode alterar as condições do ambiente e limitar a ação de fungos que naturalmente conseguem manter as populações de insetos-praga em equilíbrio com o ambiente (Uemura, 2016).

A utilização de fungos entomopatogênicos no controle de insetos-praga é uma prática viável, segura e vem se consolidando ao longo dos anos no Brasil e no mundo. Ao contrário dos inseticidas químicos, o controle biológico por fungos mantém as populações de parasitoides, predadores e polinizadores presentes no ambiente, sem interferir no equilíbrio biológico do mesmo (Pereira et al., 1998; Neves et al., 2001; Rheinheimer, 2010). Estes agentes de biocontrole apresentam um grande potencial contra populações de insetos e ácaros, com uma vasta gama de hospedeiros e fácil cultivo em laboratório (Leite et al., 2003). Segundo Alves (1998), devido ao seu amplo espectro de ação, podem atacar insetos nos mais diferentes habitats, ocasionando epizootias graças a sua capacidade de virulência, sendo a grande maioria especializada na penetração via tegumento do hospedeiro, podendo atuar igualmente por várias outras vias.

A infecção de fungos entomopatogênicos nos insetos ocorre por meio de um mecanismo próprio de penetração, que se inicia quando os conídios entram em contato com a cutícula do inseto e germinam, dando origem a um tubo germinativo e estruturas como o apressório que, ao penetrarem na cutícula do inseto por pressão mecânica, química e ação de enzimas degradam os componentes cuticulares, chegando à hemolinfa, onde o fungo se nutre e produz toxinas que causam danos à célula do hospedeiro, levando-o a morte (Alves 1998; Tiago e Furlaneto, 2003; Brito, 2011). Após matar o inseto, os fungos produzem micélio sobre o cadáver, dando origem a um grande número de conídios, os quais se dispersam rapidamente no ambiente por meio do vento, da água, dos animais e infectam novos insetos hospedeiros (Meyling e Eilenberh, 2007). Entretanto, o modo de ação dos fungos entomopatogênicos varia de acordo com a sua virulência e a capacidade de adesão e penetração no inseto hospedeiro, assim como a quantidade de enzimas produzidas durante o processo de degradação do tegumento do hospedeiro (Shahid et al., 2012).

A utilização de fungos entomopatogênicos contra insetos-praga deve ocorrer de forma harmônica com o ambiente, onde eles possam ser capazes de controlar as populações de pragas agrícolas mantendo-as em níveis que não acarretem danos econômicos para o setor agrícola (Gallo et al., 2002). Quando empregado de forma correta, o controle biológico

utilizando fungos apresenta diversas vantagens quando comparado aos produtos químicos, uma vez que oferecem grande eficiência tanto em relação ao custo quanto à segurança para o homem e o meio ambiente, com redução significativa dos resíduos tóxicos nos alimentos e a preservação dos inimigos naturais sobre as culturas agrícolas (Farias e Magalhães, 2001).

A eficiência e aplicabilidade de fungos entomopatogênicos vêm sendo demonstradas em estudos no controle de pragas agrícolas, como *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, utilizado nas décadas de 60 e 70 no Estado de Pernambuco para o controle da cigarrinha da cana-de-açúcar (Alves e Faria, 2005). Assim como, produtos à base de *M. anisopliae* empregados no controle da broca dos *citrus* e da cigarrinha-das-pastagens; *Sporothrix insectorum* (Hoog e Evans) usado para controlar o percevejo da renda, *Leptopharsa heveae* Drake e Poor (Heteroptera: Tingidae), uma das pragas que mais trazem prejuízos para os produtores da seringueira (Finkler, 2012). Além destes fungos, os gêneros *Beauveria*, *Isaria* (= *Paecilomyces*), *Lecanicillium* (= *Verticillium*), *Nomuraea*, *Entomophthora* e *Aschersonia* são constantemente utilizados em programas de controle biológico de pragas (Lacey et al., 2001; Finkler, 2012).

O gênero *Fusarium* vem se destacando pela sua aplicabilidade no controle de insetos-praga. Este gênero foi relatado na literatura como sendo o responsável por casos de epizootias naturais em populações de cochonilha do carmim, em áreas afetadas na Paraíba e em Pernambuco (Longo e Rapisarda, 2001; Santos, 2009). *Fusarium lateritium* (Nees) é uma das espécies do gênero que tem se mostrado altamente patogênico contra cigarrinhas e certos dípteros, assim como o *Fusarium verticillioides* (Sacc.) encontrado causando epizootias em *Tropidacris collaris* Stoll (Orthoptera: Romaleidae) (Pelizza et al., 2011). A possibilidade de uso do gênero *Fusarium* no controle de insetos parte do fato que este é produtor de micotoxinas, tais como a beauvericina, fusaproliferina, ácido fusárico, fusarinas e moniliformina, substâncias que estão relacionadas com a capacidade de fungos entomopatogênicos em causar a morte de insetos (Leslie e Summerell, 2006).

No Brasil, o emprego de fungos entomopatogênicos é feito por meio da produção massal utilizando arroz como substrato, onde o produto final é comercializado na forma de um pó molhável ou suspensão oleosa, sendo que algumas usinas de cana-de-açúcar produzem o seu próprio estoque de fungos para utilização em suas lavouras (Faria e Magalhães, 2001, Chagas et al., 2016). Os produtos bioinseticidas a partir de fungos representam uma boa alternativa no controle de insetos sugadores, principalmente nos casos em que o uso de agrotóxicos não é permitido como, por exemplo, em cultivos orgânicos ou, ainda, nos casos em que não há o registro de inseticidas químicos específicos para o controle de uma determinada praga

(Alves e Lopes, 2008). Os bioinseticidas a base de fungos mais utilizados no Brasil pertencem aos gêneros *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Sporothrix* (Barros et al., 2010). Em escala mundial os inseticidas fúngicos mais comuns são à base de *B. bassiana* (33,9%), *M. anisopliae* (33,9%), *Lecanicillium* spp. (9,4%), *Isaria fumosorosea* Wise (5,8%) e *B. brongniartii* (Sacc.) Petch (4,1%) (Faria e Wraight, 2007). De uma maneira geral estes dados mostram o quanto os fungos podem ser eficientes no controle biológico, com resultados extremamente benéficos, demonstrando o potencial de controle para as mais variadas pragas que trazem riscos para a produção agrícola (Martins et al., 2014).

### 2.2.2 Complexo de espécies de *Fusarium incarnatum-equiseti* como entomopatógenos

O complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) é estudado devido a sua possível aplicabilidade no controle de pragas agrícolas. O mesmo é considerado um dos mais ricos em espécies insetícolas, tendo como alguns de seus hospedeiros a maioria dos insetos da ordem Hemiptera (26 em 31 isolados) (O'Donnell et al., 2012). Resultados promissores do seu uso no controle da vespa do castanheiro, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), foram observados após a inoculação de isolados do FIESC, sendo registrado um efeito letal de 60 a 70% contra esse inseto (Addario e Turchetti, 2011). Jun Wu et al. (2014) ao utilizarem isolados do FIESC no controle de *Matsucoccus matsumurae* Kuwana (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae), praga destrutiva de dois pinheiros nativos chineses, *Pinus tabulaeformis* Carr. e *P. massoniana* Lamb., demonstraram uma mortalidade de 83% para fêmeas adultas após oito dias da inoculação do isolado HEB01.

Resultados promissores também foram registrados para o controle da cochonilha do carmim (Hemiptera), conhecido pelos danos causados à palma forrageira *O. ficus-indica*, assim como os prejuízos aos agricultores que cultivam este vegetal. Desta forma, Santos et al. (2015) ao utilizarem isolados do FIESC contra a cochonilha do carmim, após testes de patogenicidade em laboratório, registraram 76,27% de mortalidade total. Enquanto Velez (2016), após avaliação da patogenicidade de isolados do FIESC contra o mesmo inseto, também em laboratório, obteve 55,33% como o maior valor de mortalidade confirmada.

Entretanto, apesar do FIESC ter um número considerável de hospedeiros insetícolas, estudos relacionados à sua patogenicidade e possível aplicabilidade no controle biológico de insetos-praga ainda são muito escassos, ressaltando a importância de estudos para este grupo de fungos que possibilitarão um maior conhecimento sobre a ação e o comportamento de isolados entomopatogênicos sobre diferentes ordens de insetos.

### 2.2.3 Uso de extratos vegetais no controle de insetos-praga

Os insetos-praga estão entre os organismos que mais limitam o rendimento no setor agrícola, chegando a ocasionar perdas de 25 a 40% no total da produção de alimentos (Sobhy et al., 2014). Os prejuízos são em decorrência do ataque de insetos em diferentes partes do vegetal, o que ocasiona a diminuição no valor comercial, redução na produção e posteriormente a morte da planta (Imenes e Ide, 2002). Para controlar estes organismos, na maioria das vezes, são utilizados inseticidas químicos, sendo que o uso contínuo destes agroquímicos acarreta consequências não desejadas, como a ressurgência da praga, ocasionada pelo desenvolvimento de resistência, o surgimento de pragas secundárias devido aos efeitos tóxicos sobre inimigos naturais da praga alvo, a acumulação de resíduos tóxicos nos alimentos, além de sérios impactos ambientais, intoxicação por manipulação do produto e elevados custos relacionados a esse tipo de controle (Ribeiro et al., 2014).

A grande diversidade de substâncias produzidas pelas plantas possibilita a sua aplicação no controle de insetos (Schmaltz et al., 2005), sendo esta uma prática antiga que é utilizada há aproximadamente 5.000 anos, com mais de 2000 espécies vegetais conhecidas pela sua ação inseticida (Viegas Júnior, 2003). Na Índia, desde o ano 2.000 a.C. os inseticidas botânicos eram utilizados no controle de pragas agrícolas; no Egito, na época dos Faraós e na China há 1.200 anos a.C., os inseticidas vegetais faziam parte das estratégias de controle de pragas de grãos armazenados. Assim como na Europa no século XVI, onde o controle de pragas também era realizado a partir da utilização de extratos de plantas. Entretanto, ao longo dos anos, com o aparecimento dos inseticidas organo-sintéticos, o uso de inseticidas botânicos reduziu grandemente (Flint e Van Den Bosch, 1981; Casida e Quistad, 1998; Thacker, 2002; Moreira et al., 2005).

Buscando diminuir a dependência de produtos químicos, juntamente com a necessidade de métodos mais seguros, ecológicos e eficientes (Çalmasur et al., 2006), o uso de produtos naturais à base de extratos vegetais vem sendo retomado como forma de controle alternativo. Isso se deve ao fato de que, grande parte das plantas produz substâncias biológicas, como os metabólitos secundários, que funcionam como um mecanismo de defesa, garantindo a sobrevivência dos vegetais, uma vez que possuem ações medicinais, inseticidas, repelentes, antimicrobianas, entre outras (Saito, 2004; Souza, 2012).

Muitos dos vegetais com ação inseticida têm algumas de suas substâncias conhecidas, tais como as piretrinas, rotenona, nicotina, cevadina, veratridina, rianodina, quassinoides, azadiractina, comumente encontrados em plantas aromáticas (Isman, 2000). Quanto ao modo

de ação destas substâncias certos efeitos sobre os insetos podem ser observados, como repelência, inibição de oviposição, redução na alimentação, alterações no sistema hormonal, levando a consequências como distúrbios no desenvolvimento e comportamento; além de deformações e mortalidade em diferentes fases de desenvolvimento do inseto (Gonzaga et al., 2007; Rodrigues et al., 2014). A utilização destes compostos apresenta algumas vantagens como custo reduzido, fácil utilização e obtenção do material vegetal, podendo ser produzidos nas formas de pós, extratos e óleos, e quando comparados aos inseticidas químicos os impactos causados ao meio ambiente e ao homem são praticamente nulos (Mazzonetto e Vendramim, 2003; Melo et al., 2011). Neste sentido, o uso de extratos vegetais como inseticida alternativo é uma maneira de promover o controle sem que haja o desencadeamento de problemas decorrentes da utilização dos inseticidas sintéticos (Goergen, 2016).

Devido à vasta gama de metabólitos secundários produzidos pelas plantas, pesquisas voltadas para o uso de extratos vegetais demonstraram resultados satisfatórios no controle das mais variadas pragas agrícolas. Segundo Jacobson (1989), as famílias botânicas mais estudadas como fonte de metabólitos secundários ou produtos naturais com potencial para o controle de pragas agrícolas são: Achantaceae, Anacardiaceae, Annonaceae, Apocynaceae, Araceae, Asteraceae, Canelaceae, Celastraceae, Chenopodiaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Liliaceae, Meliaceae, Moraceae, Piperaceae, Pteridaceae, Ranunculaceae, Rutaceae, Salicaceae, Sapotaceae, Simaroubaceae, Solanaceae, Verbenaceae e Zingiberaceae. Entre as espécies mais utilizadas como inseticidas botânicos o nim (*Azadirachta indica* A. Juss.), planta de origem Asiática, destaca-se pelo seu efeito repelente, anti-alimentar, além da sua influência no crescimento e na fecundidade de várias espécies de insetos (Soares et al., 2006). Resultados promissores de *A. indica* foram demonstrados por Viana e Prates (2003) contra larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) conhecida por lagarta da couve (Medeiros e Boiça Júnior, 2005). Efeitos positivos também foram relatados por Sabino (2014), que demonstrou uma mortalidade superior a 90% para adultos de *Rhynchophorus palmarum* Linnaeus (Coleoptera: Curculionidae) ao utilizar um inseticida botânico à base de óleo de nim a uma concentração de 5%. Assim como Costa et al. (2016) que, ao avaliarem diferentes concentrações do extrato aquoso de sementes de nim (*A. indica*) sobre a mosca minadora *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae), verificaram uma eficiência no controle de 89,7 e 90,6%, respectivamente, para as concentrações de 15 e 20 g 100 mL<sup>-1</sup>.

Outra planta com ação inseticida de grande destaque é *Nicotiana tabacum* L. (fumo), pertencente à família Solanaceae, que possui a nicotina como princípio ativo e age por contato

ao ser absorvida pelo tegumento do inseto (Ribeiro et al., 2016). É comumente empregada no controle de artrópodes sugadores como pulgões, moscas-brancas, cigarrinhas, tripses e ácaros principalmente em casas de vegetação e jardins (Reigart e Roberts, 1999; Cox, 2002). Ao utilizar o extrato aquoso, obtido do pó proveniente do processamento industrial das folhas de fumo Dequech et al. (2009) observaram elevada mortalidade para larvas de *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Yponomeutidae) conhecida popularmente como traça-das-crucíferas. Quintela e Pinheiro (2009) relataram que o extrato de fumo testado sobre a oviposição de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) demonstrou-se promissor, apresentando uma redução significativa na oviposição em relação à testemunha. Os efeitos do tabaco também foram testados contra *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) em quatro tempos de contato, sendo o de dez minutos o de maior sensibilidade, exercendo grande influência na mortalidade do inseto (Jacomini et. al., 2016).

Além do nim e do fumo, outras plantas também têm ação eficiente devido as suas características inseticidas, provocando os mais diversos efeitos aos insetos. Extratos etanólicos de *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. e *Persea americana* Mill. proporcionaram elevadas taxas de mortalidade da traça-das-crucíferas (*P. xylostella*) (Stein e Klingauf, 1990). Efeitos satisfatórios foram obtidos utilizando extratos orgânicos de *Melia azedaracha* Linnaeus que reduziram a oviposição de *P. xylostella* (93,5%) (Chen et al., 1996) e causaram eficiente mortalidade contra ninfas de a *B. tabaci* Genn. biótipo B (Sousa e Vendramim, 2000). O extrato de raízes de *Derris rariflora* Benth., conhecida por timbó, apresentou efeitos satisfatórios ao ser avaliado contra o gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) (Alécio et al., 2005). Os extratos hexânicos das sementes de *Annona muricata* Linnaeus (Annonaceae), nas concentrações de 0,5 e 1,0%, causaram 98,9 e 92,2% de mortalidade do pulgão preto *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae), respectivamente (Rodrigues et al., 2014).

Entretanto, embora a maioria das plantas medicinais possuam ação eficaz no controle de insetos-praga, muitos agricultores desconhecem esta informação (Almeida et al., 1999). Desta forma, as inúmeras plantas com atividades inseticidas precisam ser estudadas e, quando possível, utilizadas nas propriedades agrícolas, na forma de controle alternativo (Menezes, 2005). Estes estudos possibilitarão o desenvolvimento de novas classes de agentes de controle mais seguros (Kim et al., 2003), de forma a oferecer, principalmente ao pequeno agricultor, um número de opções maiores, que muitas vezes podem estar presentes no agroecossistema local (Ribeiro et al., 2016).

#### 2.2.4 Pau-brasil

O pau-brasil, *Caesalpinia echinata* Lam. reclassificada em *Paubrasilia echinata* Lam. E. Gagnon, H. C. Lima e G. P. Lewis (2016), pertence à Família Fabaceae, Subfamília Caesalpinioideae e gênero *Paubrasilia*. É uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica, com grande importância cultural, econômica e ambiental (Xavier et al., 1995; Silva, 2001). A mesma foi amplamente explorada como primeira riqueza econômica do país na época do Brasil colônia, por produzir um corante de tonalidade avermelhada (brasileína) (Rocha, 2004). Devido a sua intensa exploração para atender à indústria tintorial, o pau-brasil tornou-se uma espécie rara, condição que durou até o final século XX. Entretanto, o plantio do pau-brasil é bastante difundido no país, integrando projetos de regeneração de áreas degradadas (Rezende et al., 2004).

A maioria dos exemplares vegetais da Família Fabaceae apresenta um grande valor econômico, sendo utilizada como produto medicinal e veterinário, forragem animal e combustível, além de ser empregada em processos tecnológicos e na construção civil (Lopes, 2013). Estudos relacionados à sua atividade inseticida demonstram que algumas espécies apresentam ações contra insetos, o que pode estar relacionado ao fato de que algumas plantas da família Fabacea apresentam inibidores de tripisina e proteínas hemaglutinantes, as quais atuam sobre enzimas proteolíticas e carboidratos da superfície celular, considerados metabólitos importantes, podendo atuar no mecanismo de defesa da planta contra insetos e patógenos (Chevreuil et al., 2009).

Extratos de *Gliricidia sepium* (Jacq.) (Fabaceae) mostraram atividade inseticida sobre ovos, larvas e pupas de *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) (Krishnappa, et al. 2012). Assim como o extrato de folhas e das vagens de *Libidibia ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*) (Fabaceae), ao ocasionar elevada mortalidade contra a cochonilha do carmim (*D. opuntiae*) e do cupim *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera: Termitidae), com mortalidade de 97% das fêmeas adultas da cochonilha do carmim pelo extrato das folhas, e 82% de mortalidade das ninfas pelo extrato das vagens. Já para *N. corniger*, o extrato das folhas ocasionou uma mortalidade de 100%, tanto para operários quanto para os soldados (Lopes, 2013). Resultados satisfatórios também foram demonstrados para os extratos da semente e de folhas de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) (Fabaceae), apresentando um excelente potencial no controle do mosquito vetor da dengue *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) em testes realizados em laboratório (Rajeswary e Govindarajan, 2014).

Ao avaliar o extrato etanólico das folhas do pau-brasil, Luna (2006) relatou a presença de fenóis, flavononas, flavonas, esteroides, terpenos, antraquinonas, antrobas e principalmente os flavonoides. Segundo Harbone (1998), os flavonoides fazem parte de um grupo de substâncias naturais originadas nos vegetais por meio dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e malonato. Estas substâncias possuem atividades bioquímicas comprovadas, como ação antibacteriana, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antialérgica e anticancerígena (Middleton, 1998).

Na medicina popular, o extrato do lenho do pau-brasil é utilizado como adstringente, cicatrizante e tônico (Xavier et al., 1995; Silva, 2001). Sua casca cozida é utilizada contra diarreias e disenterias, e quando reduzida a pó é utilizada no fortalecimento das gengivas (Bastos, 2011). Na busca por produtos naturais que pudessem ser utilizados no controle de vetores de doenças tropicais, Luna et al. (2005) ao trabalharem com o extrato etanólico das folhas de *P. echinata* (= *C. echinata*), relataram significativa atividade larvicida frente a ovos do *A. aegypti* e *Artemia salina* Linnaeus (Anostraca: Artemiidae). O extrato etanólico do caule do pau-brasil apresentou uma atividade muito potente contra os ovos do molusco *Biomphalaria glabrata* Say, hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* Sambon, causador da esquistossomose.

Partindo das observações feitas na literatura a respeito do pau-brasil, planta que possui potenciais terapêuticos e aplicabilidade na medicina popular, investigações relacionadas a outras atividades biológicas podem ser interessantes, uma vez que podem vir a evidenciar novas aplicações para esta planta, tais como o seu possível uso contra pragas agrícolas ainda não relatados na literatura.

#### 2.2.4 Combinação de fungos e extratos vegetais no controle de insetos-praga

Na busca por novas formas de controle que possam diminuir o uso do controle químico, constantemente empregado contra insetos-praga, uma alternativa bastante promissora é a utilização do uso combinado de fungos entomopatogênicos e extratos vegetais. O emprego de produtos compatíveis aos fungos entomopatogênicos pode possibilitar uma maior eficiência na conservação do entomopatógeno, potencializando o controle biológico (Silva et al., 2005).

O efeito de extratos vegetais sobre entomopatógenos pode apresentar certas variações, a depender da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das concentrações utilizadas. Os produtos fitossanitários naturais podem atuar inibindo o crescimento vegetativo, a conidiogênese e a esporulação dos micro-organismos, chegando a

causar mutações genéticas, fatores que podem levar à diminuição da virulência a determinadas pragas (Roel, 2001). No entanto, é interessante que estes produtos apresentem efeito sinérgico ou neutro para que não haja o comprometimento da ação do patógeno. Desta forma é importante que os extratos de plantas sejam seletivos, tanto aos fungos entomopatogênicos que ocorrem naturalmente, quanto aos que são introduzidos, a fim de conservar sua viabilidade para o controle de insetos (Hirose et al., 2001, Oliveira et al., 2003).

O extrato aquoso de folhas de nim combinado com *M. anisopliae* apresentou efeito positivo no controle de *Heterotermes tenuis* Hagen (Isoptera: Rhinotermitidae) (Castiglioni et al., 2003). Diferentes concentrações do óleo de nim em meio BDA não afetaram a viabilidade dos conídios de *M. anisopliae*, *Beauveria bassiana* Bals. e *Paecilomyces farinosus* (Wise) Brown e Smith, contudo o crescimento vegetativo e a esporulação foram afetados (Marques et al., 2004). Uma diminuição no crescimento vegetativo de *B. bassiana* foi observado por Santos e Lima (2011) ao utilizarem óleo de nim, não interferindo na esporulação e viabilidade dos conídios. Nana et al. (2012) demonstraram que todas as concentrações testadas do extrato de folhas de *Calpurnia aurea* Benth foram compatíveis ao fungo *M. anisopliae*.

Além do nim outros exemplares vegetais têm demonstrado atividades satisfatórias quando em combinação com fungos entomopatogênicos. Visando o controle de *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae), o crescimento vegetativo, produtividade e germinação de conídios e a virulência do fungo, *B. bassiana* foi avaliado nas concentrações de 1; 5; 10; 15 e 20% frente aos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* Linnaeus) (Zingiberaceae), capim-limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) (Poaceae) e citronela [*Cymbopogon nardus* L. (Rendle)]. Os extratos vegetais testados reduziram a viabilidade do fungo em no mínimo 50% comparados à testemunha. A cúrcuma foi compatível na concentração a 1%, o capim limão foi compatível até 15%, enquanto que a citronela, até 10%, não havendo influência dos extratos sobre a virulência do fungo (Mertz et al., 2010).

Ao avaliar a compatibilidade de extratos de *Indigofera suffruticosa* Mill. e de *Myrciaria cauliflora* Mart. com isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* no controle de *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lepdoptera: Pyralidae), Silva (2015), demonstrou a compatibilidade dos extratos aos fungos testados, relatando o maior número de insetos mortos para os isolados de *M. anisopliae* IBCB425 (96%) e PL43 (94%) combinados ao extrato das sementes de *I. suffruticosa*. O extrato dos frutos de *M. cauliflora* associado a *B. bassiana* ESALQ447 matou 84% das larvas *D. saccharalis*.

O extrato etanólico de sementes de *Annona mucosa* Jacq. (Magnoliales: Annonaceae) testado sobre três espécies fúngicas entomopatogênicas, demonstrou-se compatível aos fungos

*B. bassiana* (ESALQ-PL63), *I. fumosorosea* (ESALQ-1296) e moderadamente tóxico para *M. anisopliae* (Ribeiro et al., 2014). Na tentativa de controle de *A. diaperinus*, Martins et al. (2016) avaliaram a compatibilidade do extrato das folhas de jabuticabeira [*Myrciaria cauliflora* (Mart.)], goiabeira [*Psidium guajava* (L.)], jamboleiro [*Syzygium cumini* (L.)], a *B. bassiana*, relatando a compatibilidade de todos os extratos ao fungo utilizado no estudo.

Estudos relacionados ao uso de fungos entomopatogênicos associados a extratos vegetais no controle da cochonilha do carmim têm sido realizados.

Ao avaliar a ação conjunta de isolados do FIESC a extratos de fumo (*Nicotiana tabacum* Linnaeus) e tamboril [*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong], Barbosa, (2016) relatou elevada mortalidade para cochonilha do carmim decorrente da combinação do isolado URM6779 ao extrato aquoso de fumo a 10% (96,83%) e do isolado URM6777 combinado ao extrato aquoso de tamboril a 5% (70,34%).

Santos et al. (2015) verificaram o efeito dos extratos aquoso e hidroalcoólico de *Ricinus communis* Linnaeus (mamona) e [*Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz] (catingueira) combinados a isolados do FIESC no controle *D. opuntiae*. O extrato aquoso de *R. communis* (5%) e a combinação deste com URM6778 foram indicados para testes no campo, sendo que o último tratamento apresentou mortalidade confirmada de 100%.

Outro estudo foi realizado com os extratos aquoso e hidroalcoólico de *Chenopodium ambrosioides* Linnaeus (mastruz) em combinação com isolados do FIESC, também no controle da cochonilha do carmim. Os tratamentos envolvendo o extrato aquoso (10%) e o isolado URM6779 apresentaram os melhores resultados de mortalidade (66,25 e 44,5%, respectivamente) para estudos no campo (Velez, 2016).

Como observado nos trabalhos de Santos, et al. (2015), Velez, (2016) e Barbosa, (2016) a utilização conjunta de fungo e extrato vegetal no controle da cochonilha do carmim é uma alternativa viável, porém ainda requer estudos em casa de vegetação e no campo.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Analisar a eficiência do extrato de pau-brasil combinado a cinco isolados do FIESC no controle de *D. opuntiae*.

#### **3.2 Específicos**

- Avaliar o efeito dos extratos aquoso e hidroalcoólico de pau-brasil sobre o crescimento vegetativo, germinação e esporulação de cinco isolados do FIESC;
- Selecionar os isolados compatíveis quanto ao tipo e à concentração do extrato de pau-brasil;
- Avaliar a mortalidade de *D. opuntiae* pelos extratos aquoso e hidroalcoólico do pau-brasil e fungos selecionados separadamente e em combinação fungos-extratos *in vitro* e em casa de vegetação.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Fungos

Cinco isolados do complexo de espécies *F. incarnatum-equiseti* (FIESC) foram utilizados no seguinte estudo, obtidos a partir de adultos de *D. opuntiae*, coletados em diferentes municípios de Pernambuco e preliminarmente selecionados como potenciais agentes de controle do *D. opuntiae* (Carneiro-Leão et al., 2017). Os isolados foram depositados na Micoteca URM, da Universidade Federal de Pernambuco sob os seguintes números de acesso: URM6776 (Sertânia), URM6777 (Sertânia), URM6778 (Tuparetama), URM6779 (Ibimirim) e URM6782 (Arcoverde).

### 4.2 Obtenção do extrato de pau-brasil

Para a obtenção do extrato, folhas de pau-brasil foram coletadas no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), passaram por uma lavagem com água e detergente neutro, em seguida foram secas à temperatura ambiente. As folhas secas foram colocadas em estufa por 48 horas a uma temperatura de 40°C até que ficassem quebradiças, seguindo-se da trituração em um moedor tipo willey. Dois extratos foram preparados: aquoso e hidroalcoólico. Para a preparação do extrato aquoso, o material vegetal triturado foi suspenso em água destilada na concentração de 30%, permanecendo em repouso por 48 horas e posteriormente foi filtrado. Para a confecção do extrato hidroalcoólico, o material vegetal triturado foi suspenso em álcool a 70%, originando uma suspensão na concentração a 30%, que permaneceu em repouso por duas horas, seguido de filtração. Para evitar a interferência do álcool, este foi evaporado em Banho-Maria à temperatura de 45°C por 16 horas e após acrescentou-se água destilada até o volume inicial (Celoto et al., 2008). As

soluções foram esterilizadas em vapor fluente por 15 minutos, seguindo-se da diluição de cada extrato em meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) ainda líquido (45°C) nas concentrações de 5%, 10% e 20%.

#### 4.3 Obtenção e manutenção de *Dactylopius opuntiae* em casa de vegetação

Cladódios de palma sadis foram coletados no interior do Estado de Pernambuco e levados ao IPA, onde foram infestados com *D. opuntiae* pertencentes à criação do Instituto (Figura 2). Após vinte dias de infestação, as colônias de cochonilhas foram utilizadas na montagem dos bioensaios em laboratório.

Figura 2. Criação de *Dactylopius opuntiae* sobre cladódios da palma forrageira *Opuntia ficus-indica* em casa de vegetação, no Instituto Agrônomo de Pernambuco.



Fonte: Diniz A. G., 2016.

#### 4.4 Produção e quantificação do inóculo fúngico

Os cinco isolados do FIESC foram cultivados em 50g de Arroz e incubados durante oito dias em BOD ( $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ), visando o crescimento vegetativo e a esporulação. Em seguida, os conídios foram contados em câmara de Neubauer, sendo obtida uma suspensão de  $1 \times 10^7$  conídios/mL, conforme a metodologia de Alves e Morais (1998).

#### 4.5 Efeito do extrato de pau-brasil sobre a germinação, crescimento vegetativo e esporulação de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti*

A taxa de germinação, crescimento vegetativo e a esporulação dos isolados do FIESC foram avaliados em BDA, acrescido de extrato aquoso e hidroalcoólico de pau-brasil nas concentrações de 5, 10 e 20%, tendo como testemunha o BDA sem os extratos. Para a determinação da taxa de germinação, um mL das suspensões de  $10^7$  conídios/ml dos isolados

fúngicos foi adicionado a nove mL de cada concentração dos extratos e em água destilada esterilizada (controle), permanecendo por três horas. Em seguida 50 µl das suspensões de conídios foram semeados em BDA e após 14 horas de incubação foi realizada a contagem de 200 conídios por repetição, verificando-se a quantidade de conídios germinados e não germinados, em microscópio óptico. Para avaliação do crescimento vegetativo, discos de 0,12 cm<sup>2</sup> das colônias fúngicas, com oito dias de crescimento, foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA (controle) e BDA acrescido das concentrações de cada extrato. Após oito dias de incubação a 28°C, as colônias foram medidas em diâmetros opostos. A esporulação foi determinada a partir da transferência de três blocos cilíndricos de 0,28 cm<sup>2</sup> das colônias fúngicas para tubos de ensaio contendo 5 ml de Tween 80 (0,01%), seguido da contagem de conídios em câmara de Neubauer (Alves, 1998).

Para a variável taxa de germinação, o delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (três concentrações do extrato vegetal, mais controle) e três repetições. Para as variáveis crescimento vegetativo e esporulação, o delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4, sendo cinco isolados do FIESC e três concentrações do extrato vegetal, mais o controle (ausência de extrato), totalizando 20 tratamentos, com três repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Assisat 7.5 beta (Silva e Azevedo, 2009).

#### **4.6 Seleção dos isolados e concentrações dos extratos de pau-brasil para os testes de patogenicidade**

A seleção dos isolados testados sobre a cochonilha, tanto de forma individual quanto em combinação aos extratos aquoso e hidroalcoólico, e a sua melhor concentração, foi realizada com base no modelo IB (Índice Biológico) desenvolvido por Rossi-Zalaf et al. (2008) para caracterizar a compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos inseticidas *in vitro*. Logo, os valores percentuais médios de esporulação (ESP), crescimento vegetativo (CV) das colônias dos fungos e germinação (GERM) foram calculados com relação ao controle, sendo aplicada para cada concentração do produto, a seguinte fórmula:  $IB = [47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GERM)] / 100$ . O IB classifica os produtos quanto à compatibilidade com entomopatógenos, podendo ser considerado tóxico valores de 0 a 41, moderadamente tóxico de 42 a 66 e compatível > 66.

#### **4.7 Avaliação da associação do extrato de pau-brasil e isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* no controle de *Dactylopius opuntiae***

Para a avaliação da patogenicidade, palmas contendo fêmeas adultas de *D. opuntiae* com 20 dias de infestação foram pulverizadas com detergente neutro (2%), a fim de reduzir a quantidade de cera na superfície das cochonilhas, sendo mantidas em repouso à temperatura ambiente por cerca de 40 minutos para secagem dos cladódios. Em seguida, as palmas foram pulverizadas de maneira uniforme com quatro mL da suspensão de conídios dos fungos + extrato vegetal (aquoso e/ou hidroalcoólico) na concentração compatível com o fungo, utilizando-se pulverizador manual. Em cada ensaio, os extratos vegetais e os isolados do FIESC foram testados individualmente. No tratamento controle, os insetos foram pulverizados com água destilada esterilizada, mais Tween 80 (0,01%). Após a aplicação, as palmas foram mantidas em sala climatizada a  $28^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ . A avaliação da mortalidade foi realizada 10 dias após a aplicação das suspensões fúngicas e/ou extratos e para isso três áreas de 8 x 8 cm (lado) foram delimitadas em cada palma e 50 insetos foram avaliados por área, totalizando 150 insetos para cada isolado e extrato estudado.

A mortalidade total foi avaliada em estereomicroscópio, observando-se a quantidade de insetos mortos e vivos os quais foram diferenciados por características como a coloração e turgidez. A mortalidade corrigida foi calculada a partir dos dados de mortalidade total por meio da fórmula de Abbott (1925), na qual, a porcentagem de eficiência no tratamento = (número de insetos vivos no controle – número de insetos vivos no tratamento) / número de insetos vivos no controle X 100.

#### **4.8 Eficiência dos fungos e extratos no controle de *Dactylopius opuntiae* em casa de vegetação**

Para avaliação da eficiência dos fungos e extratos no controle da cochonilha do carmim em casa de vegetação, cladódios de palma sadis foram plantados em recipientes de plásticos e mantidos por dois meses em casa de vegetação até o crescimento de novos cladódios, seguindo-se da infestação das palmas pela cochonilha do carmim (Figura 3).

Figura 3. Cladódios de *Opuntia ficus-indica* plantados em vasos para experimento em casa de vegetação, no início da infestação por *Dactylopius opuntiae*.



Fonte: Diniz A. G., 2016.

Testes *in vivo* foram conduzidos com base na seleção dos tratamentos a partir dos testes de patogenicidade *in vitro*. Os isolados do FIESC e extratos vegetais aquoso e hidroalcoólico selecionados foram testados tanto individualmente quanto em combinação, utilizando-se a metodologia citada no item 4.7. As suspensões do extrato vegetal, fungo, fungo + extrato e controle foram aplicados com pulverizador manual nos cladódios de *O. ficus-indica*, e permaneceram em casa de vegetação por um período de 10 dias, seguindo-se da retirada destes cladódios para posterior análise da mortalidade total.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Efeito do extrato de pau-brasil sobre a germinação, crescimento vegetativo e esporulação de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti*

O extrato aquoso de pau-brasil, nas concentrações testadas, não interferiu na viabilidade dos conídios da maioria dos isolados, com exceção do isolado URM6776 (80,83%) que apresentou uma redução na taxa de germinação, na concentração a 5%, quando comparado aos demais isolados que obtiveram valores superiores a 90% (Tabela1). O extrato etanólico de sementes de *A. mucosa* (Ribeiro et al., 2014) e o óleo de nim (Marques et al., 2004) não influenciaram na germinação dos conídios de *B. bassiana*, *I. fumosorosea* e *M. anisopliae*. Enquanto uma formulação comercial do extrato de nim (Nimkol) afetou a

germinação dos isolados testados na concentração a 5% (Rosales, 2001). Ao verificar a influência do óleo de nim nas concentrações 1, 0,1 e 0,01% sobre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* Santos (2016), relatou que nenhuma das concentrações do extrato interferiu de forma negativa na germinação do fungo testado.

O conhecimento a respeito da ação de extratos vegetais sobre a germinação de isolados fúngicos é extremamente importante quando se quer utilizá-los em conjunto no controle biológico de insetos-praga, uma vez que a germinação é a primeira etapa na infecção do fungo, a qual tem início a partir da adesão dos conídios ao tegumento do inseto (Alves, 1998; Neves et al., 2001). Desta forma, quando o extrato reduz ou inibe a germinação dos conídios, provavelmente reduzirá a eficiência dos fungos no controle de pragas, bem como o estabelecimento de epizootias em campo (Ribeiro et al., 2014).

Para a variável crescimento vegetativo, o extrato aquoso do pau-brasil nas concentrações de 10 e 20% ocasionou a redução no crescimento do isolado URM6778. Os demais isolados não sofreram influência das concentrações do extrato (Tabela 1). Extratos de capim-limão e de citronela também causaram uma redução do crescimento vegetativo do isolado Unioeste 4 de *B. bassiana* (Mertz et al., 2010). Silva, (2015) avaliou o potencial de extratos de folhas de anileira, *Indigofera suffruticosa* Mill, em associação com fungos entomopatogênicos no controle de *D. saccharalis* e verificou a não interferência do extrato sobre o crescimento vegetativo para a maioria dos isolados, exceto para *M. anisopliae* IBCB425 que teve o diâmetro da colônia reduzido à medida que a concentração do extrato foi aumentada.

As diferentes concentrações do extrato aquoso de pau-brasil não interferiram na produção de conídios da maioria dos isolados (Tabela1). Duas exceções ocorreram, uma para URM6776, cuja esporulação foi aumentada na concentração do extrato a 20%, e outra para URM6778 que teve sua esporulação reduzida na concentração a 10%, em relação ao controle. Araujo Jr. et al. (2009), ao avaliarem a ação do óleo de nim sobre *B. bassiana*, observaram uma redução significativa na produção de conídios para o isoado CG001 a 0,5%, maior concentração do óleo de nim utilizada no estudo. Mamprim et al. (2013) relataram que para o isolado *M. anisopliae*, testado frente a ação dos extratos aquoso de capim cidreira, arruda, canela, alecrim e orelha de pau, a produção de conídios diferiu do controle, com uma redução de 24 a 39%. No entanto, para o extrato de eucalipto houve o aumento na produção de conídios. Em um estudo realizado por Lopes, (2013) os extratos de folhas e vagens de *Libidibia ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*) foram compatíveis com os isolados de *I. farinosa*

(ESALQ1355), de *Isaria javanica* (Frieder. e Bally) (URM4993) e de *I. fumosorosea* (ESALQ1297) testados nas concentrações de 10 mg/mL, 25 mg/mL e 50 mg/mL, não havendo diferenças das médias de esporulação em relação ao controle. De acordo com Alves (1998), o fator esporulação é considerado mais influente que o crescimento vegetativo, isso porque os conídios são as estruturas responsáveis pela disseminação do fungo no ambiente além de proporcionar o início da infecção no campo.

Em relação à influência do extrato hidroalcoólico de pau-brasil sobre os isolados FIESC testados, houve uma redução significativa na viabilidade dos esporos do isolado URM6777 nas concentrações de 10 e 20%. Para os demais isolados não foram observadas diferenças entre as concentrações do extrato estudadas (Tabela 2). Resultados semelhantes foram observados por Mamprim et al. (2013), em que os extratos alcoólicos de capim-cidreira, eucalipto, alecrim e arruda obtiveram redução na viabilidade dos conídios de *M. anisopliae* de 75, 72, 27 e 35%, respectivamente, quando comparados ao controle.

A maioria dos isolados apresentou uma redução significativa do crescimento vegetativo à medida que a concentração do extrato hidroalcoólico de pau-brasil aumentou, exceto para os isolados URM6779 e URM6782 na concentração de 5%, os quais obtiveram o crescimento semelhante ao controle (Tabela 2). Ao avaliar o crescimento vegetativo de *B. bassiana* sobre os extratos etanólicos de *Momordica charantia* Linnaeus e *Piper tuberculatum* Jacq. na concentração de 25 mg/ml Sallet, (2006) observou que seu crescimento foi reduzido em relação ao controle ao ser exposto ao extrato de *P. tuberculatum*, mas não o foi pelo extrato de *M. charantia*. Santos et al. (2015) avaliaram a ação dos extratos de mamona e catingueira sobre os mesmos isolados utilizados no presente estudo e relataram uma redução significativa do crescimento vegetativo para todos os isolados expostos ao extrato de mamona, assim como para a maioria dos isolados expostos ao extrato de catingueira, com exceção do isolado URM6776 na concentração a 5%. Enquanto que para este mesmo isolado, Velez (2016) relatou a redução do crescimento vegetativo nas concentrações do extrato de mastruz de 10 e 20% e para isolado URM6779 na concentração a 20%.

A inibição do crescimento micelial por extrato aquoso ou alcoólico é uma indicação da fungitoxicidade dos componentes presentes no extrato, entretanto esta ação sobre o crescimento não limita totalmente o seu uso no controle combinado, a não ser que os outros indicadores (germinação e produção de conídios) também sejam influenciados (Alves, 1998; Mamprim et al., 2013).

A produção de esporos dos isolados URM6778 na concentração do extrato hidroalcoólico a 10% e URM6782, nas concentrações de 10 e 20%, foi reduzida em

comparação ao controle, enquanto que para os isolados URM6776, URM6777 e URM6779 as concentrações do extrato hidroalcoólico não interferiram na produção de esporos, uma vez que estes não diferiram do controle (Tabela 2).

A influência de extratos vegetais hidroalcoólicos sobre a esporulação de conídios de isolados do FIESC também foi observada por Santos et al. (2015), em que apenas o isolado URM6779 apresentou uma redução da produção de esporos nas concentrações de 5% e 20%. Influência positiva do extrato hidroetanólico de mastruz foi observada na produção de conídios do isolado URM6779 na concentração a 20% e do isolado URM6782 na concentração a 5% (Velez, 2016). Trabalhos que avaliem a influência de extratos hidroalcoólicos sobre a esporulação de isolados fúngicos não têm sido encontrados com frequência na literatura, o que reforça a importância de novos estudos a respeito da utilização deste tipo de extrato para o controle combinado de insetos.

Tabela 1. Viabilidade dos esporos (%) (média), crescimento vegetativo (cm) e número de esporos/cm<sup>2</sup>, produzidos por isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato aquoso de pau-brasil. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). \* Dados originais. Para a análise estatística os dados foram transformados em  $x=\sqrt{x}$ .

Isolados	Viabilidade dos esporos (%) CV = 3,33				Crescimento vegetativo (cm) CV = 7,90				*Número de esporos/cm <sup>2</sup> ( $\times 10^3$ ) CV = 25,71			
	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%
URM 6776	93,67 aA	80,83 bB	90,67 bA	95,00 aA	6,33 bA	5,43 cA	5,72 bA	5,87 bA	1,67 bB	1,69 bcB	1,95 bAB	3,25 abA
URM 6777	96,33 aA	94,33 aA	94,83 abA	94,83 aA	8,15 aA	8,00 abA	7,63 aA	8,03 aA	7,01 aA	9,43 aA	6,56 aA	7,80 aA
URM 6778	95,50 aA	98,00 aA	97,17 abA	98,83 aA	7,25 abA	6,73 bcA	5,50 bB	4,60 bB	8,32 aA	3,92 abAB	3,54 bB	5,31 abcAB
URM 6779	98,50 aA	98,67 aA	98,83 aA	97,17 aA	7,08 abA	8,17 aA	7,73 aA	7,97 aA	1,71 bA	0,54 cA	0,72 bA	2,41 cA
URM6782	97,83 aA	98,33 aA	98,33 aA	98,83 aA	7,28 abA	8,20 aA	8,18 aA	8,45 aA	5,24 abA	3,56 bcA	4,60 bA	2,71 bcA

Fonte: Diniz, A. G. 2016.

Tabela 2. Viabilidade dos esporos (%) (média), crescimento vegetativo (cm) e número de esporos/cm<sup>2</sup>, produzidos por isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de pau-brasil. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). \*Dados originais. Para a análise estatística os dados foram transformados em  $x=\sqrt{x}$ .

Isolados	Viabilidade dos esporos (%) CV = 5,34				Crescimento vegetativo (cm) CV = 14,17				* Número de esporos/cm <sup>2</sup> ( $\times 10^3$ ) CV = 52,19			
	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%
URM 6776	90,33 aA	80,67 aA	86,00 aA	82,17 aA	5,75 bA	3,35 cB	1,93 bC	1,10 bC	7,15 bAB	10,19 abA	0,29 aB	0,14 bB
URM 6777	43,33 bA	38,67 bA	21,17 bB	26,67 bB	7,20 abA	5,02 bB	2,72 abC	2,06 abC	11,73 abAB	16,13 aA	7,62 aAB	3,66 abB
URM 6778	90,17 aA	84,00 aA	86,50 aA	86,67 aA	7,90 aA	5,18 bB	3,90 aBC	2,73 aC	13,19 abA	6,17 bcAB	3,65 aB	4,78 abAB
URM 6779	94,50 aA	91,67 aA	87,83 aA	88,50 aA	8,03 aA	7,68 aA	3,60 aB	3,10 aB	6,67 bAB	0,85 cB	1,61 aB	11,63 aA
URM6782	96,50 aA	95,67 aA	95,50 aA	97,50 aA	5,82 bA	5,22 bA	3,45 aB	2,90 aB	20,01 aA	14,16 abAB	6,54 aB	6,44 abB

Fonte: Diniz, A. G. 2016.

Os valores do Índice Biológico (IB) variaram conforme o isolado, o tipo de extrato e as concentrações testadas. Desta forma, o maior número de tratamentos compatíveis foi registrado para o extrato aquoso, o qual obteve 13 combinações (fungo + extrato) compatíveis e apenas duas moderadamente tóxicas. Já o extrato hidroalcoólico obteve cinco combinações compatíveis, cinco moderadamente tóxicas e cinco tóxicas (Tabela 3). A seleção dos tratamentos para os testes de patogenicidade contra a cochonilha do carmim foi baseada nos maiores valores do IB, logo, os tratamentos selecionados para o extrato aquoso foram URM6777, na concentração de 5%, e URM6779, na concentração de 20%. Para o extrato hidroalcoólico os tratamentos selecionados foram URM6776 e URM6777, na concentração de 5%, e URM6779, na concentração de 20%.

Ao comparar a atuação dos extratos aquoso e hidroalcoólico do pau-brasil em relação aos indicadores avaliados, é perceptível a maior influência do extrato hidroalcoólico sobre os isolados testados. Fato que pode estar associado à solubilidade de certos compostos possivelmente presentes nos extratos, variando de acordo com os respectivos solventes (água e álcool), sendo possível que no extrato alcoólico existam compostos de ação tóxica, ausentes ao extrato aquoso (Mamprim et al., 2013).

Tabela 3. Classificação da compatibilidade dos isolados do Complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) com os extratos aquoso e hidroalcoólico de pau-brasil, em diferentes concentrações (valor IB, segundo Rossi-Zalaf et al., 2008).

Isolado	Extrato aquoso de pau-brasil			Isolado	Extrato hidroalcoólico de pau-brasil		
	% Extrato	Valor IB	Classificação		% Extrato	Valor IB	Classificação
URM 6776	0%	100		URM 6776	0%	100	
	5%	92,46	Compatível		5%	97,13	Compatível
	10%	102,28	Compatível		10%	26,54	Tóxico
	20%	63,81	Moderadamente tóxico		20%	18,45	Tóxico
URM 6777	0%	100		URM 6777	0%	100	
	5%	113,77	Compatível		5%	101,05	Compatível
	10%	94,08	Compatível		10%	50,58	Moderadamente tóxico
	20%	104,00	Compatível		20%	33,08	Tóxico
URM 6778	0%	100		URM 6778	0%	100	
	5%	74,15	Compatível		5%	60,25	Moderadamente tóxico
	10%	64,13	Moderadamente tóxico		10%	44,70	Moderadamente tóxico
	20%	68,08	Compatível		20%	41,44	Tóxico
URM 6779	0%	100		URM 6779	0%	100	
	5%	77,83	Compatível		5%	60,13	Compatível
	10%	79,45	Compatível		10%	40,74	Tóxico
	20%	123,37	Compatível		20%	102,48	Compatível
URM 6782	0%	100		URM 6782	0%	100	
	5%	92,21	Compatível		5%	82,50	Compatível
	10%	100,61	Compatível		10%	51,81	Moderadamente tóxico
	20%	86,89	Compatível		20%	47,36	Moderadamente tóxico

## 5.2 Avaliação da associação do extrato de pau-brasil e isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* no controle de *Dactylopius opuntiae* em laboratório

A mortalidade corrigida da cochonilha do carmim variou de 32,19 a 89,26% para os testes em laboratório (Tabela 4). Os isolados URM6777 (88,99%) e URM6779 (89,26%) diferiram dos extratos de pau-brasil a 5 (32,19%) e 20% (53,44%), mostrando que os fungos foram mais eficientes no controle da cochonilha. Não foram observadas diferenças entre o uso individual dos fungos e uso combinado com o extrato aquoso. Ao trabalhar com o isolado URM6777, Santos et al. (2015) demonstraram mortalidade corrigida para a cochonilha de 88,98%, resultado semelhante ao encontrado nesse estudo (88,99%). Estes mesmos autores avaliaram a combinação deste isolado ao extrato aquoso de catigueira a 10% e relataram uma mortalidade corrigida de 73,80%. Enquanto Velez (2016), ao utilizar o isolado URM6779 relatou uma mortalidade corrigida de 46,71% e ao combiná-lo ao extrato aquoso de mastruz a 10% a mortalidade registrada para a cochonilha foi de 51,64%, potencializando a ação de controle sobre estes insetos.

Foi verificado que a combinação de URM6777 + extrato aquoso de pau-brasil 5% diferiu do extrato a 5%, sendo a combinação mais eficiente do que o extrato vegetal isoladamente. Silva (2015), ao combinar o extrato dos frutos de jaboticaba aos isolados de *M. anisopliae* PL43 e IBCB425 relatou uma mortalidade de 84% e 76% respectivamente, para *D. saccharalis*, sendo superior à obtida pelo extrato, o qual ocasionou apenas 20% de mortalidade dos insetos. Sachet (2015), ao associar o óleo de nim com *M. anisopliae* obteve um resultado satisfatório contra *Atta sexdens* Forel (Hymenoptera: Formicidae), diferindo do óleo de nim e o fungo empregados individualmente.

Tabela 4. Percentual médio  $\pm$  erro padrão (E. P.) da mortalidade corrigida de *Dactylopius opuntiae* pelo extrato aquoso de pau-brasil, isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) e combinação extrato aquoso de pau-brasil + isolados do FIESC em laboratório.

Tratamentos	Mortalidade corrigida (%) $\pm$ E.P.
Extrato aquoso de pau-brasil a 5%	32,19 $\pm$ 8,84 c
Extrato aquoso de pau-brasil a 20%	53,44 $\pm$ 6,28 bc
Isolado URM6777	88,99 $\pm$ 7,42 a
Isolado URM6777 + Extrato aquoso de pau-brasil a 5%	84,38 $\pm$ 4,33 ab
Isolado URM6779	89,26 $\pm$ 1,57 a
Isolado URM6779 + Extrato aquoso de pau-brasil 20%	75,42 $\pm$ 10,97 ab
CV%	17,76%

Fonte: Diniz, A. G. 2016.

Os extratos hidroalcoólicos do pau-brasil a 5 e 20% não foram eficientes no controle da cochonilha do carmim. Os tratamentos URM6776 e URM6776 + extrato hidroalcoólico de pau-brasil a 5% não diferiram entre si e quando comparados às demais combinações com o uso individual dos isolados fúngicos, estes últimos foram mais eficientes no controle da cochonilha do carmim, sendo

possível inferir que os extratos não exerceram ação sobre estes insetos. Comportamento semelhante foi observado por Rosales, (2001), o mesmo relatou que a associação de *B. bassiana* e *M. anisopliae* com óleo de nim e com extrato aquoso de folhas de *Melia azedarach* Linnaeus não foi eficiente porque para todos os casos a mortalidade de *H. tenuis* provocada pelos isolados utilizados de forma independente foi igual ou maior que a provocada pela associação destes com os vegetais. Ao utilizar a combinação de isolados fúngicos a extrato vegetal hidroetanólico no controle da cochonilha do carmim, Santos et al. (2015) relataram uma mortalidade de 75,34% para o isolado URM6777 e de 80,57% para a combinação deste isolado ao extrato hidroetanólico de catingueira, não diferindo entre si. O mesmo foi observado por Velez, (2016) ao testar o isolado URM6779 contra a cochonilha do carmim, demonstrando uma mortalidade de 71,92 e de 72,73% ao combinar este isolado ao extrato hidroetanólico de mastruz, não sendo verificada influência do extrato sobre a potencialização do fungo na mortalidade dos insetos. Em um estudo realizado por Martins, et al., (2016), *B. bassiana* ocasionou uma mortalidade de 88,6% nos insetos adultos de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). Estes mesmos autores, ao utilizarem este isolado exposto aos extratos alcoólico e aquoso de folhas de jabuticabeira [*Myrciaria cauliflora* (Mart.)], goiabeira [*Psidium guajava* (Linnaeus)] e jamboleiro [*Syzygium cumini* (Linnaeus)], na concentração de 10%, relataram uma mortalidade dos insetos de (82,2% e 88,8%), (80,0% e 97,7%) e (82,2% e 88,8) respectivamente, destacando-se os tratamentos com extrato aquoso.

Tabela 5. Mortalidade corrigida (percentual médio  $\pm$  E. P.) de *Dactylopius opuntiae* pelo extrato hidroalcoólico de pau-brasil, isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) e combinação do extrato hidroalcoólico de pau-brasil + isolados do FIESC em laboratório.

Tratamentos	Mortalidade corrigida (%) $\pm$ E.P.
Extrato hidroalcoólico de pau-brasil a 5%	2,27 $\pm$ 1,28 d
Extrato hidroalcoólico de pau-brasil a 20%	0,00 $\pm$ 0,00 d
Isolado URM6776	77,51 $\pm$ 6,23 ab
Isolado URM6776 + Extrato hidroalcoólico de pau-brasil a 5%	77,77 $\pm$ 5,96 ab
Isolado URM6777	86,77 $\pm$ 5,32 a
Isolado URM6777 + Extrato hidroalcoólico de pau-brasil 5%	52,43 $\pm$ 4,62 bc
Isolado URM6779	65,09 $\pm$ 7,33 ab
Isolado URM6779 + Extrato hidroalcoólico de pau-brasil a 20%	36,81 $\pm$ 8,21 c
CV%	19,31

Fonte: Diniz, A. G. 2016.

Para os testes de mortalidade em casa de vegetação utilizou-se o isolado URM6779 e a sua combinação ao extrato aquoso de pau-brasil a 20%, uma vez que estes tratamentos também apresentaram o maior valor de IB.

### 5.3 Eficiência dos fungos e extratos no controle de *Dactylopius opuntiae* em casa de vegetação

Dentre os tratamentos avaliados em casa de vegetação o isolado URM6779 destacou-se por apresentar o maior valor de mortalidade corrigida (76,25%), enquanto os demais tratamentos não diferiram entre si (Tabela 6). Desta forma, a combinação do extrato aquoso de pau-brasil com o isolado fúngico não provocou um aumento na mortalidade dos insetos em condições de casa de vegetação. Também não foram observadas diferenças entre a mortalidade corrigida da cochonilha do carmim quando testados este mesmo isolado (URM6779) e sua combinação com o extrato hidroetanólico de mastruz a 10% em casa de vegetação (Velez, 2016). Rondelli et al. (2013), ao testarem separadamente o óleo de mamona a 2%, o isolado ESALQ-447 de *B. bassiana*, uma formulação comercial (Boveril® WP) e uma mistura de óleo de mamona com o isolado e a formulação do produto de *B. bassiana* contra larvas de segundo instar de *P. xylostella*, em relação à mortalidade larval, viabilidade larval e pupal em casa de vegetação, relataram que todos os tratamentos reduziram a viabilidade larval em relação ao controle. Apenas o isolado ESALQ-447 ou uma mistura do isolado com óleo de mamona reduziu a viabilidade pupal, enquanto que o óleo de mamona combinado com *B. bassiana* não aumentou a mortalidade da praga. Enquanto Dunkel et al. (2010), ao avaliarem o efeito do extrato de *Tagetes minuta* L. em associação com *B. bassiana* e *M. anisopliae* no controle de *Tetanops myopae* (Roder) (Diptera: Ulidiidae), não observaram efeitos adversos do extrato sobre os fungos, todavia efeitos sinérgicos também não foram observados.

Tabela 6. Mortalidade corrigida (percentual médio  $\pm$  E. P.) de *Dactylopius opuntiae* pelo extrato aquoso de pau-brasil, isolado URM6779 do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) e combinação do extrato aquoso de pau-brasil + isolado URM6779 em casa de vegetação.

Tratamentos	Mortalidade corrigida (%) $\pm$ E.P.
Extrato aquoso de pau-brasil a 20%	53,27 $\pm$ 1,37 b
Isolado URM6779	76,25 $\pm$ 3,86 a
Isolado URM6779 + Extrato aquoso de pau-brasil 20%	51,91 $\pm$ 1,63 b
CV%	10,30

Fonte: Diniz, A. G. 2016.

Os resultados obtidos em casa de vegetação foram satisfatórios uma vez que a temperatura média registrada foi de 39,5°C e a umidade relativa foi de 45,0%, valores que poderão ser encontrados no Sertão do Nordeste brasileiro. Portanto, foi observado um indicativo de que o isolado poderá ser eficiente em condições de campo.

Segundo Ferreira (2011), a interação entre plantas com potencial inseticida e fungos entomopatogênicos, visando o controle de insetos-praga, pode ocasionar uma eficiência maior no controle do que a observada para a utilização de plantas e fungos separados, uma vez que o extrato vegetal, além do seu efeito inseticida, exerceria uma função estressora sobre a praga, o que afetaria a resistência comportamental e imunológica dos insetos, favorecendo o desenvolvimento da doença. Entretanto, os extratos de pau-brasil utilizados nesse estudo parecem não ter apresentado essa ação estressora sobre o inseto, uma vez após combinação do extrato com os isolados testados os índices de mortalidade dos insetos não se elevaram.

Outro fato que pode ter interferido para o não desencadeamento da ação estressora dos extratos de pau-brasil sobre a cochonilha do carmim pode estar relacionada ao inseto e a parte da planta utilizada. Logo, o efeito tóxico de extratos de plantas depende da espécie de artrópode sobre o qual estão atuando, assim como o órgão da planta, a partir do qual se obteve o extrato, uma vez que a concentração de substâncias inseticidas difere de acordo com a parte da planta utilizada para a confecção do extrato (Costa et al., 2004; Menezes, 2005; Santiago, 2008).

## 6 CONCLUSÕES

- O extrato aquoso de pau-brasil foi compatível com a maioria dos isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC);
- O extrato hidroalcoólico de pau-brasil foi compatível apenas com alguns dos isolados do FIESC;
- Os extratos de pau-brasil apresentam pouca ou nenhuma ação bioinseticida contra insetos da cochonilha do carmim;
- O tratamento utilizando apenas o isolado URM6779 é o mais indicado para testes futuros contra a cochonilha do carmim em campo.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, n.18, p. 265-267, 1925.
- ADDARIO, E.; TURCHETTI, T. Parasitic fungi on *Dryocosmus kuriphilus* in *Castanea sativa* necrotic galls. **Bulletin of Insectology**, v. 64, n. 2, p. 269-273, 2011.
- AGOZZINO, P.; AVELLONE, G.; CARAULO, L.; FERRUGIA, M.; FLIZZOLA, F. Volatile profile of scilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) by SPME-GC/MS analysis. **Italian Journal of Food Science**, v. 17, n. 30, p. 341-348, 2005.
- ALÉCIO, M. R. et al. Avaliação do potencial inseticida *in vitro* do extrato aquoso de raízes de timbó (*Derris rariflora*) sobre *Sitophilus zeamais* Mots In: **I Jornada Amazonense de Plantas Medicinais, Manaus**. Anais da I Jornada amazonense de plantas medicinais, p. 42, 2005.
- ALMEIDA, A. A.; SILVA, R. A.; ARAUJO, W. L.; OLIVEIRA, A. V. B. e LEITE, D. T. Problemas fitossanitários causados pela cochonilha do carmim a palma forrageira no Cariri Ocidental Paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 3, p. 98-108, 2011.
- ALMEIDA, F. A. C.; GOLDFARB, A. C.; GOUVEIA, J. P. G. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus* spp. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 1, n. 1, p. 13-20, 1999.
- ALVES M. A. et al. Fruto de palma [*Opuntia ficus-indica* (L) miller, cactaceae]: morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v.9, n. 1, p. 16-25, 2008.
- ALVES, B.S. e LOPES, R. B. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios. Piracicaba: **FEALQ**, v. 14, p.69-104. 2008.
- ALVES, R.T.; FARIA, M. R. Situação atual do uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. Disponível:<http://www.clubedofazendeiro.com.br/Cietec/artigos/ArtigosTexto>. 2005.
- ALVES, S. B. Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba. **FEALQ**. 1998.
- ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES S. B. (Ed.0 Controle Microbiano de insetos. 2 ed. Piracicaba; **FEALQ**, Cap. 11, p. 289-381, 1998.
- ALVES, S.B., MORAES, S.A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: Alves, S.B. (Ed.), Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba, **FEALQ**, pp. 765-778. 1998.
- ARAUJO JR., J. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v.38, n.4, p. 520-525, 2009.

BALE, J. S.; VAN LENTEREN, J. C.; BIGLER, F. Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, v. 363, p. 761-776, 2008.

BALLAL, C. R.; VERGHESE, A. Role of Parasitoids and Predators in the Management of Insect Pests. **New Horizons in Insect Science: Towards Sustainable Pest Management**. p 307-326. DOI 10.1007/978-81-322-2089-3\_28; Springer, India 2015.

BARBERA, G. **História e importância econômica e agroecologia**. In: Barbera, G.; Ingleses, P. (Eds.). *Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/PB, cap. 1 p.1-11. 2001.

BARBOSA, L. F. S. Uso combinado de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* e extratos de fumo e tamboril no controle da cochonilha do carmim. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Bacharelado em Ciências Biológicas / Ciências Ambientais, Centro de Biociências; Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE. 40f. 2016.

BARBOSA, P. Conservation biological control. **San Diego: Academic**, 1998.

BARROS, N.M.; VARGAS, L.R.B.; SCHRANK, A.; BOLDO, J.T.; SPECHT, A. Fungos como agentes de controle de pragas. In: Esposito E.; Azevedo J. L.; (Org.). *Fungos: Uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. 02 ed. Caxias do Sul: **EDUCS**, v.01, p. 491-531, 2010.

BASTOS, I. V. G. Avaliação da atividade farmacológica de *Caesalpinia echinata* Lam. (Flores); Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife; 99f. 2011.

BERTI FILHO, E.; CIOCIOLA, A. I. **Parasitóides ou Predadores? Vantagens e Desvantagens**, p. 29-41. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). *Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e predadores*. Manole, São Paulo. 635 p., 2002.

BONTEMPO, L. F. et al. Extrato pirolenhoso, óleo de nim e fungos entomopatogênicos no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em condições de laboratório. **Cerrado Agrociências. Unipam**, n.2, p. 30-39, 2011.

BRITO, E. S. G. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle da cochonilha-do-carmim *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). Tese de doutorado, Campos dos Goytacazes Rio de Janeiro. 2011.

ÇALMASUR, O.; ASLAN, I.; SAHIN, F. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.23, p.140-146, 2006.

CARNEIRO-LEÃO, M. P.; TIAGO, P. V.; MEDEIROS, L. V.; COSTA, A. F.; OLIVEIRA N. T. *Dactylopius opuntiae*: control by the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and confirmation of mortality by DNA fingerprinting. *J. Pest Sci.* DOI 10.1007/s10340-017-0841-4. 2017.

CARVALHO, R. A. Controle Alternativo da Cochonilha-do-carmim na Palma Forrageira. Governo do Estado da Paraíba. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Econômico – SEDE. João Pessoa, 23p. 2005.

CASIDA, J. E.; QUISTAD, G. B. Golden age of insecticide research: past, present, or future? **Annual Review of Entomology**, n. 43, p. 1-16, 1998.

CASTIGLIONI, E.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. Compatibilidad de *B. bassiana* y *M. anisopliae* com Nimkol-L° para el combate de *Heterotermes tenuis*. **Manejo integrado de plagas y agroecologia**, Costa Rica, n. 69, p. 38-44, 2003.

CASTRO, R. M. Biologia e exigências térmicas de *Zagreus bimaculosus* (MULSANT) Coleóptera: Coccinellidae). Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 68f. 2011.

CELOTO, M.I.B., PAPA, M.F.S., SACRAMENTO, L.V.S., CLEOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloesporioides*. **Acta Scientiarum**, n. 30, p. 1-5, 2008.

CHAGAS F. et al., Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil). **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFSM**. v. 38 n. 2, p. 637 – 647, 2016.

CHAVES, A. J. L. Viva melhor com as plantas medicinais. Lisboa, **Edições Une**. 2008.

CHEN, C.; CHANG, S.; CHENG, L.; HOU, R. F. Deterrent effect of the chinaberry extract on oviposition of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lep. Yponomeutidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, v.120, p.165-169, 1996.

CHEVREUIL, L. R. et al. Detecção de inibidores de tripsina e atividade hemaglutinante em sementes de leguminosas arbóreas da amazônia. **Acta amazonica**, Manaus, v. 39, n. 1, p. 199–206, 2009.

CHIACCHIO, F. P. B. Incidência da cochonilha do carmim em palma forrageira. **Bahia Agríc**, n. 8, p. 12-14, 2008.

COSTA, E. M. et al. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. **Revista Ciência Agronômica**, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, v. 47, n. 2, p. 401-406, 2016.

COSTA, E. L. N., SILVA, R. F. P., FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p.173-85, 2004.

COSTA, V. A.; BERTI FILHO, E.; SATO, M. E. Parasitóides e predadores no controle de pragas, p. 25-34. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Eds.). Controle Biológico na Prática. **ESALQ/USP**, Piracicaba: CP 2, 287p, 2006.

COX, C. Pyrethrins/Pyrethrum. **Journal of Pesticide Reform**, n. 22, p. 14-20, 2002.

CUNHA, A. P.; SILVA, A. P. e ROQUE, O. R. Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 2003.

DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological Control by Natural Enemies**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 386 p. 1991.

DEQUECH, S. T. B.; EGEWARTH, R.; SAUSEN, C. D.; STURZA, V. S.; RIBEIRO, L. P. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 551-554, 2009.

DUNKEL FV, JARONSKI ST, SEDLAK CW, MEILER SU, VEO KD. Effects of steam-distilled shoot extract of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) and entomopathogenic fungi on larval *Tetanops myopaeformis*. **Environmental Entomology**, n. 39, p. 979–988, 2010.

FALCÃO. H. M. Ecofisiologia de cultivares de *Opuntia ficus-indica* mill (cactaceae) de tolerância contrastante à cochonilha-do-carmim *dactylopius opuntiae*. Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco UFPE/CCB. 75f. (22. ed.). 2012.

FARIA, M.R. de, WRAIGHT, S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, p. 237-256, 2007.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação atual e perspectivas. **Biociência**, n. 22, p. 18-21, 2001.

FERREIRA, F. T. R. Bioatividade de nanoformulação de nim e extratos de outras Meliaceae e a sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera Gelechiidae). Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 176p. 2011.

FILOTAS, M., SANDERSON, J., WRAIGHT, S. Compatibility and potential synergism between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the insect growth regulator azadirachtin for control of the greenhouse pests *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*. 38th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Alaska, USA, p. 81. 2005.

FINKLER, C.L.L. Controle de insetos: uma breve revisão. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica 8 e 9: p. 169-189, 2012.

FLINT, M. L.; VAN DEN BOSCH, R. Introduction to integrated pest management. New York, Plenum , 240p. 1981.

FLORES, V. e TEKELENBURG, A. Produção de corante Dacti (*Dactylopius coccus*). Agroecologia, Cultivo e Utilizações da Palma Forrageira. **SEBRAE**. João Pessoa, p. 169-186, 2001.

FRAGA, D. F. Ecologia química no controle biológico de fitófagos e respectivos predadores e parasitoides. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 98f. 2016.

GAGNON, E.; BRUNEAU, A.; HUGHES, C. E.; QUEIROZ, L. P.; LEWIS G. P. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). **PhytoKeys**, n. 71, p. 1–160, 2016.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**, Biblioteca de Ciências Agrárias - FEALQ, Vol.10, Piracicaba, 920 p., 2002.

GARCÍA, J. C.; VALDIVIA, C. B. P.; MARTÍNEZ, Y. R. e HERNÁNDEZ, M. S. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (opuntia spp.) **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 2, p. 169-174, 2004.

GOERGEN, P. C. H. Extratos de *Schinus terebinthifolius* no controle de *Sitophilus granarius* L. em grãos de trigo armazenado. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Agrônômica) Departamento de Estudos Agrários – DEAg, da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ; 39f. 2016.

GOMES, S.A. Avaliação da toxicidade de extratos da alga *Laurencia dendroideae* e de *Azadirachta indica* (nim) e sinergismo entre o óleo de nim e o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* contra larvas de *Aedes aegypti*. 70f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Campos dos Goytacazes, RJ. 2012.

GONÇALVES, P.A. Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripes em cebola. **Hortic. Bras.** v. 15, p. 32-34. 1997.

GONZAGA, A. D. et al. Potencial de manípueira de mandioca (*Manihot esculente* Crantz) no controle de pulgão-preto de citros (*Toxoptera citricida* Kirkaldy, 1907). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 646-650, 2007.

HAJEK, A. E. AND ST. LEGER, R. J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology**, n. 39, p. 293-32, 1994.

HARBONE, J. B. Phytochemical methods. 3 ed., London: **Chapman e Hall**, p. 228, 1998.

HIROSE, E., L.H. MARTINS, A. MOINO JR., P.M.O.J. NEVES, C.H. PERALTA e J.A.C. ZEQUI. Effect of biofertilizers and Neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, n. 44, p. 409-423, 2001.

IMENES, S. D. L.; IDE, S. Principias grupos de insetos pragas em plantas de interesse econômico. **O Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 235-238, 2002.

INGLIS, G. D., GOETTEL, M. S. BUTT, T. M., STRASSER, H. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt, T. M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.) Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential. **CABI Publishing**, PP. 23-69. 2001.

ISLAM, M.T., CASTLE, S.J., SHUNXIANG, R. Compatibility of the insect pathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, n. 134, p. 28-34, 2010.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, p.603-8, 2000.

JACOBSON, M. **Botanical pesticides: past, present and future**. In: Arnasan, J. T.; Philogene, B. J. R.; Morand, P. (ed.). Insecticides of plant origin. Washington: American Chemical Society, 1989.

JACOMINI, D. et al. Extrato de tabaco no controle do besouro cascudinho de aviário. Notas científicas; **Rev. Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.51, n.5, p.680-683, 2016.

JUN WU et al., Patogenicidade de Três Fungos Entomopatogênicos para *Matsucoccus matsumurae*. PLoS ONE 9 (7): e103350. doi: 10.1371 / **Journal.pone.0103350**. 2014.

KIM, S.I.; ROHA, J.; KIMA, D.; LEEB, H.; AHN, Y. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 3, p. 293-303, 2003.

KRISHNAPPA, K.; DHANASEKARAN, S.; ELUMALAI, K. Larvicidal, ovicidal and pupicidal activities of *Gliricidia sepium* (Jacq.) (Leguminosae) against the malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Culicidae: Diptera). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Haikou, v. 5, n. 8, p. 598–604, 2012.

LACEY, L. A.; FRUTOS, R.; KAYA, H. K.; VAIL, P. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biocontrol**, n. 21, p. 230-248, 2001.

LANDA, Z.; BOHATA, A. Compatibility of entomogenous fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with natural insecticides based on azadirachtin and neem oil. **Collection of Scientific Papers – Series for Crop Sciences**, Ceske Budejovice, v. 16, n. 2, p. 99-106, 1999.

LAZZARINI, G. M. J. Efeito da umidade sobre a germinação in vitro de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e atividade contra *Triatoma infestans*. 2005. 46p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M. e ALVES, S. B. Produção de Fungos entomopatogênicos. Ribeirão Preto. A.S. Pinto. 2003.

LEO, M., BRUZUAL DE ABREU, M., PAWLOWSKA, A. M., CIONI, P. L., BRACA, A. Profiling the chemical content of *opuntia ficus indica* flowers by HPLC-P-DA-ESI-MS and GC-EIMS analyses. **Phytochemistry Letters**, v. 3, n. 1, p. 48-52, 2010.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The fusarium laboratory manual**. Malden: Blackwell, 420p. 2006.

LIMA M. S. et al. Predadores associados á *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) em palma forrageira no estado de Pernambuco, Brasil, Nota cinetífica; **Revista Chilena de entomologia**, n. 36, p. 51-54, 2011.

LONGO, S.; RAPISARDA, C. Pragas da palma forrageira. In: Barbera, G.; Inglese, P.; Barrios, E. P. *Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira*. Paraíba: **SEBRAE** p. 103-111, 2001.

LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C. DE; BRITO, C. H. DE; BATISTA, J. DE L. Velocidade de infestação e dispersão de *Dactylopius opuntiae* Cockerell, 1896 em palma gigante na Paraíba. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, 6, n.1:196-205, jan./abr., 2009.

LOPES, R. S. Avaliação do Efeito Bioinseticida de Linhagens de *Isaria farinosa* e dos Extratos Naturais de *Caesalpinia ferrea* sobre *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) praga da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*) em Pernambuco. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas); Universidade Federal de Pernambuco; Centro de Ciências Biológicas; p.275, 2013.

LÓPEZ, B.E.R., A. F.; HERNÁNDEZ, E. A.; CÉZAR, J. C. S.; TORRES, M. R.; DELGADO Y A. P. Sandoval, Identificación, biología y adaptación de la cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae) a las condiciones ambientales de Bermejillo, Durango. **Revista Chapi Serie Zonas Áridas**, n. 5, p. 41-48, 2006.

LUNA, J. S. Estudo de plantas Bioativas. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza. 223p. 2006.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F, et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 97, p. 199-206, 2005.

MAMPRIM, et al. Efeito de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok; **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1451-1466, 2013.

MARQUES, R. P; MONTEIRO, A. C; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1675-1680, 2004.

MARTINS, A. L. da S.; SCHULER, A. E.; FIDALGO, E. C. C.; CLEMENTE, E. de P.; MONTEIRO, J. M. G.; OLIVEIRA, A. P. de; FONTANA, A. O enfoque sistêmico no diagnóstico participativo dos sistemas de produção da comunidade Faraó. Rio de Janeiro: **Embrapa Solos**, 42 p. 2014.

MARTINS, C. C.; ALVES, L. F. A.; MAMPRIM, A. P. Effect of plant extracts and a disinfectant on biological parameters and pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 420-427, 2016.

MARTINS, S. C. C. Avaliação do potencial biológico de *Opuntiae ficus-indica* (Figueira da Índia); Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas); Universidade Fernando Pessoa, 67f. Porto, 2011.

MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de Pós de Origem Vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em Feijão Armazenado. **Neotropical Entomology**, v. 32, n.1, p. 145-149, 2003.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JÚNIOR, A. L. Efeito da aplicação de extratos aquosos em couve na alimentação de larvas de *Ascia monuste orseis*. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, p.633-641, 2005.

MEDO, J. E CAGAN, L. Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. **Biological Control**, n. 59, p. 200-208, 2011.

MELO, B. A. Inseticidas botânicos no controle de pragas de produtos armazenados. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil), v.6, n.4, p.01 –10, 2011.

MENEZES, E.L.H. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 58 p. (**Embrapa Agrobiologia. Documentos 205**). 2005.

MERTZ, N. R. et al. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **BioAssay**, n. 5, p.3, 2010.

MEYLING NV, EILENBERG J. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. **Biological Control**, n. 43, p. 145–155, 2007.

MIDDLETON Jr. E. Effect of Plant Flavonoids on Immune and Inflammatory Cell Function Flavonoids in the Living System. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 439, p. 175-182, 1998.

MOHAN, M. C., P. NARASIMHA, N. P. REDDY, U. K. DEVI, R. KONGARA, AND H. C. SHARMA. Growth and insect assays of *Beauveria bassiana* with neem to test their compatibility and synergism. **Biocontrol Science and Technology**, n. 17, p. 1059-1069, 2007.

MOREIRA, M. D.; PIKANÇO, M. C.; SILVA, É. M.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C. **Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas**. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR T. J.; PALLINI, A. (Eds). Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 89-120, 2005.

NANA, P., MANIANIA, N.K., MARANGA, R.O., BOGA, H.I., KUTIMA, H.L., ELOFF, J.N. Compatibility between *Calpurnia aurea* leaf extract, attraction aggregation, and attachment pheromone and entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on viability, growth, and virulence of the pathogen. **Journal of Pest Science**, n. 85, p. 109–115, 2012.

NEVES, E. M.; RODRIGUES, L.; DAYOUB, M.; DRAGONE, D. S. Citricultura brasileira: Efeitos econômicos-financeiros. 1996-2000. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n.2, p.432-436, 2001.

O'DONNELL K., HUMBER, R.A., GEISER, D.M., KANG, S., PARK, B., ROBERT, V.A.R.G., CROUS, P.W., JOHNSTON, P.R., AOKI, T., ROONEY, A.P., REHNER, S.A. Phylogenetic diversity of insecticolous *Fusaria* inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and Fusarium MLSTL. **Mycologia**, n. 104, p. 427-445, 2012.

OLIVEIRA, C.N., P.M.O.J. NEVES e L.S. KAWAZOE. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Scientia Agricola**, n. 60, p. 663-667, 2003.

OLIVEIRA, J. E. M.; et al. Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p. 7-14, 2002.

OLIVEIRA, J.V.; VENDRAMIN, J.D.; HADDAD, M.L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**, v. 74, n. 2, p. 217-227, 1999.

ONOFRE S. B.; MINIUK C. M.; BARROS N. M.; AZEVEDO J. L.; Pathogenicity of four strains of entomopathogenic fungi against the bovine tick *Boophilus microplus*. **American Journal of Veterinary Research**, n. 62, p. 1478-1480, 2001.

ÖZCAN, M.M.; AL JUHAIMI, F.Y. Nutritive value and chemical composition of prickly pear seeds (*Opuntia ficus indica* L.) growing in Turkey. **Int. J. Food Science & Nutrition**, v. 5, p. 533- 536, 2011.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J.R.P; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 1-16. 2002.

PELIZZA, S. A. et al. First record of *Fusarium verticillioides* as na entomopathogenic fungus of grasshoppers. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 70, p. 1 – 8, 2011.

PETTER, I. D. Controle biológico com Coleoptera: Coccinellidae das cochonilhas (Homoptera: Diaspididae, Dactylopiidae), pragas da “palma forrageira”. (Relatório do Estágio de Conclusão do Curso em Agronomia. 157f. Florianópolis, Santa Catarina, 2010.

PINTO, I. O. Diagnóstico e revitalização da palma forrageira como alternativa da pecuária no Cariri Oriental da Paraíba. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional), Universidade Estadual da Paraíba. p.96, 2015.

PRICE, P. W.; DENNO, R. F.; EUBANKS, M. D.; FINKE, D. L.; KAPLAN, I. *Insect Ecology: behavior, populations and communities*. New York: Cambridge University Press, p. 297-340. 2011.

QUINTELA, E. D.; PINHEIRO, P. V. Redução da oviposição de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em folhas de feijoeiro tratadas com extratos botânicos. **Bioassay**, Londrina, v. 4, n. 8, p. 1-15, 2009.

RAJESWARY, M.; GOVINDARAJAN, M. Adulticidal properties of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. (Family: Fabaceae) against dengue vector, *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, Haikou, Suppl. v. 4, p. 449–452, 2014.

REIGART, J. R.; ROBERTS, J.R. Biologicals and insecticides of biological origin In: Reigart, J.R.; Roberts, J.R. Recognition and management of pesticide poisonings. **National Pesticide Information Center (NPIC)**. 1999.

REZENDE, C. M.; CORRÊA, V. S. F.; COSTA, A. V. M.; CASTRO, B. C. S. Constituintes químicos voláteis das flores e folhas do pau-brasil (*Caesalpinia echinata*, Lam.); **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 414-416, 2004.

RHEINHEIMER, A. R. Controle Biológico e alternativo da cchonilha (*Phenacoccus manihoti* Matile-ferrero) na cultura de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 58p. 2010.

RIBEIRO, L. P. et al. In Vitro Compatibility of an Acetogenin-Based Bioinsecticide with Three Species of Entomopathogenic Fungi; **BioOne**; Florida Entomological Society, v. 97, n. 4, p. 1395-1403, 2014.

RIBEIRO, L. P.; BIERMANN, A. C. S.; DORNELES, M. P.; VENDRAMIM, J. D. Ação de inseticidas botânicos sobre o curuquerê-da-couve. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 29, n. 2, p. 84-89, 2016.

RIBEIRO, N. P. MACHADO, R. S.; NAVARRO, S. P.; BRITO, V. H. S.; CEREDA, M. P. Controle alternativo de caruncho do bambu (*Dinoderus minutus* - Fabricius, 1975, Coleoptera: Bostrichidae) à base de extratos vegetais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, p. 2236-7934, 2014.

ROCHA, Y. T. Ibirapitanga: história, distribuição geográfica e conservação do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento à atualidade. 2004. 457 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RODRIGUES, V. M. et al. Avaliação de extratos de *Annona muricata* L. sobre *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae). **Revista Brasileira de Agroecologia** v. 9, n. 3, p. 75-83, 2014.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, ed. 2, p. 43-50, 2001.

RONDELLI, V. M. et al. Insecticide activity of *Beauveria bassiana* and castor bean oil against *Plutella xylostella* under greenhouse. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1187-1193, Sept./Oct. 2013.

ROSALES, H.A.C. Efeito de derivados de meliáceas e isolados de fungos entomopatogênicos sobre o cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). 143f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2001.

ROSSI-ZALAF, L.S., S.B. ALVES, R.B. LOPES, S. SILVEIRA NETO, M.R. TANZINI Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In Alves

S.B. e R.B. Lopes. Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba, FEALQ, pp. 279-302. 2008.

SABINO, A. R. Utilização de Nematoides Entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) e Inseticidas Botânicos Visando ao Controle de Adultos de *Rhynchophorus palmarum* L., 1764 (Coleoptera: Curculionidae). Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) Centro de Ciências Agrárias; Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, Alagoas, 78f. 2014.

SACHET, A. S. O óleo de nim afeta o sistema imune das formigascortadeiras? Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins. 31f. 2015.

SÁENZ-HERNANDEZ C. Tecnologías de transformación de tunas y nopales. **CactusNet**. n. 10, p. 73-80, 2005.

SAITO, M. L. As Plantas Praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura. **Embrapa-Meio Ambiente**. Jaguariúna, 4p. 2004.

SALLET, L.A.P. Bioatividade dos extratos etanólicos de *Momordica charantia* Hitebe e *Piper tuberculatum* Jacq. sobre *Hypothenemus hampei* Ferrari e *Beauveria bassiana* Bals. 65f. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) – Programa de Biologia Experimental. Universidade Federal de Rondônia, Rondônia. 2006.

SANTIAGO, G. P., Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia** v.32, n.3, p. 792-796. 2008.

SANTOS, A.C.S., OLIVEIRA, R.L.S., COSTA, A.F., TIAGO, P.V., OLIVERIA, N.T. Controlling *Dactylopius opuntiae* with *Fusarium incarnatum– equiseti* species complex and extracts of *Ricinus communis* and *Poincianella pyramidalis*. **Journal Pest Science**. DOI 10.1007/s10340-015-0689-4. 2015.

SANTOS, D.C., I. FARIAS, M.A. LIRA, M.V.F. SANTOS, G.P. ARRUDA, R.S.B. COELHO, F. DIAS, Y J.N. MELO, Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. Recife: IPA, 48p. (**IPA. Documentos, 30**). 2006.

SANTOS, J. W. A. Efeito do óleo de nim na virulência e persistência do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* contra larvas de *Aedes aegypti*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) -- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, 63 f. 2016.

SANTOS, L. P., LIMA, E. A. L. A. Ação inseticida de *Beauveria bassiana* e de extratos vegetais no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). In: *Anais do XIX CONIC III CONITI VII JOIC*. 2011.

SANTOS, M. M. Perfil fitoquímico da palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) e atividade cicatrizante *in vivo*; Dissertação (Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia) Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; 114f. Recife, 2013.

SANTOS, P. S. Seleção de surfactantes e fotoprotetores para a formulação de *Beauveria bassiana* visando o controle de *Dactylopius opuntiae* em palma forrageira; Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal; São Paulo; 76f. 2009.

SCHMALTZ, C. et al. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. **Infarma**, Brasília, v.16, n. 13-14, p. 80-85, 2005.

SCOPEL W, ROZA-GOMES M.F. Programas de Controle Biológico no Brasil. **Unoesc e Ciência- ACET 2**, 215-223, 2011.

SHAHID, A.A., RAO, A.Q., BAKHSH, A., HUSNAIN, T. Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. **Archives of Biological Sciences**, Belgrade. v. 64, n.1, p. 21-42, 2012.

SILVA, A. B.; BRITO, J. M. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 36, n.1, p. 248-258, 2015.

SILVA, A. P. A. P. Potencial biotecnológico da associação de fungos entomopatogênicos em formulações com produtos vegetais no controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae); Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas); Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE; 246f. 2015.

SILVA, C. D. et al. *Dactylopius opuntiae*: Impactos causados e métodos alternativos utilizados em *Opuntia ficus-indica* no município de Santo André-PB. **Revista Acadêmica Científica**, v. 02, n. 01, 2013.

SILVA, F.A.S., AZEVEDO, C.A.V. Principal components analysis in the software assistat-statistical assistance. In: 7th World Congress on Computers in Agriculture, Reno. Proceedings of the 7th World Congress on Computers in Agriculture. St. Joseph: ASABE, 2009. CD-Rom. pp.1-5. 2009.

SILVA, M. L. L. S. Uso de extratos de plantas da Caatinga no controle da cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*) em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*). Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, 83 f. 2013.

SILVA, R. C.; Plantas medicinais na saúde bucal. **Artgraf**, 136p. 2001.

SILVA, Z.R., NEVES, J.O.M.P. e SANTORO, H.P. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Ciências Agrárias**, n. 26, p. 305-312, 2005.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; PAIVA, P. D. O.; SILVA, D. R. G. Cultivo e usos do Nim (*Azadirachta indica* A. Juss). **Boletim agropecuário**, Editora UFLA (Universidade Federal de Lavras), 2006.

SOBHY, I. S.; ERB, M.; LOU, Y.; TURLINGS, T. C. The prospecto of applying chemical elicitors and plant strengtheners to enhance the biological controlo f crop pests. Philosophical

Transactions of the Royal Society B: **Biological Sciences**, London, v. 369, n. 1639, p. 2012-2083. 2014.

SOUSA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de extratos aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* Biótipo B em tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v.59, n.2, p.133-137, 2000.

SOUZA, M. D. Extratos vegetais – Efeitos sobre o desenvolvimento *in vitro* do fungo simbiote e na longevidade de operárias de *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae); Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) Faculdade de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Mato Grosso. 56 f. 2012.

STEIN, U.; KLINGAUF, F. Insecticidal effect of plant extracts from tropical and subtropical species. Traditional methods are good as long as they are effective. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.110, n. 2, p.160-166, 1990.

THACKER, J. R. M. An Introduction to arthropod pest control. Cambridge, Cambridge University. 360p. 2002.

TIAGO, P. V.; FURLANETO, M. C. O. Papel de proteases Degradadoras de cutícula produzidas por fungos entomopatogênicos. **Alta Floresta**, v.2, n.1, p.40-51, 2003.

UEMURA, R. T. Colonização endofítica de fungos entomopatogênicos em soja *Glycine Max.* (L.) e efeitos em *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera*. Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Agrônômica da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo; Piracicaba; f. 32; 2016.

VALDEZ, C. A. F. Agroecologia, cultivo e uso da palma forrageira. Estudo da FAO em produção e proteção vegetal. Publicado pela **Organização das Nações Unidas** em Roma, 1999. Brasil. P.94, 95. 2001.

VELEZ, B. A. A. Controle associado de isolados do complexo de espécies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) e extrato de mastruz visando o controle da cochonilha do carmim. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos); Universidade Federal de Pernambuco; Centro de Biociências. 50f. 2016.

VIANA, P. A.; PRATES, H. T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, 2003.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WARUMBY, J. F. et al. Etologia de la cochinilla del carmim (*Dactylopius* spp.) (Homóptera; Dactylopiidae) em el Departamento Pernambuco – Brasil. Oaxaca, México. Memorias. Congreso Internacional de Grana Cochinilla y Colorantes Naturales, p. 68, 1998.

XAVIER, M. N.; RAMOS, I. N. C.; XAVIER, L. F.; A Fitoterapia no combate as Afecções Bucais. João Pessoa: Idéia, 101p. 1995.