



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

THAYZA KARINE DE OLIVEIRA RIBEIRO

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP. NO CONTROLE DE CUPIM E
INSETOS-PRAGA DO FEIJÃO-CAUPI**

Recife
2020

THAYZA KARINE DE OLIVEIRA RIBEIRO

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *TRICHODERMA* SPP NO CONTROLE DE
CUPIM E INSETOS-PRAGA DO FEIJÃO-CAUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociência da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Fungos de Interesse Agronômico

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Vieira Tiago

Co-orientador: Dr. Antonio Félix da Costa (IPA)

Recife

2020

Catálogo na Fonte:

Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Ribeiro, Thayza Karine de Oliveira

Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de cupim e insetos-praga do Feijão-caupi / Thayza Karine de Oliveira Ribeiro. - 2020.

77 f. :

il.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Vieira Tiago.

Coorientador: Dr. Antonio Félix da Costa.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2020.

Inclui referências.

1. Leguminosa. 2. Fungos. 3. Doenças e pragas – Controle biológico.

I. Tiago, Patrícia Vieira. (orientadora). II. Costa, Antônio Felix da (coorientador). III. Título.

583.74

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-042

THAYZA KARINE DE OLIVEIRA RIBEIRO

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE TRICHODERMA SPP NO CONTROLE DE
CUPIM E INSETOS-PRAGA DO FEIJÃO-CAUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociência da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 02 de março 2020

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Patrícia Vieira Tiago (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dr^a. Luciana Gonçalves de Oliveira – Examinadora Externa
(IPA - Instituto Agrônômico de Pernambuco)

Dr^a. Emmanuelle Rodrigues Araújo – Examinadora Externa
(IPA - Instituto Agrônômico de Pernambuco)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas infinitas oportunidades e pessoas maravilhosas que colocou no meu caminho.

Àqueles que sempre acreditaram em mim, que se fizeram presentes em todos os momentos (principalmente os mais complicados), meus maiores incentivadores e que sem eles, eu nada seria, meus pais Jane Maria Oliveira e Valdir Silva Ribeiro.

Ao meu irmão, William de Oliveira Ribeiro pelos inúmeros conselhos, pelo companheirismo, pelas brigas bobas e brincadeiras extremamente sérias.

Sou grata a Gustavo Henrique Araújo pelos momentos de compreensão, pelo carinho e pela disponibilização de um espaço calmo, com internet, diversas vezes durante a escrita desta dissertação.

À Dr^a Patrícia Vieira Tiago pela orientação, por toda a paciência que teve comigo, pelo apoio, pela confiança, pelos conhecimentos e incentivos dados a mim. Gratidão pelas constantes demonstrações de sabedoria e humildade.

Ao Dr. Antonio Félix da Costa do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) por ser esta pessoa incrivelmente generosa, gentil e um exemplo de profissional. Gratidão pela contribuição como co-orientador, por todos os conselhos e pela total colaboração para solucionar os problemas que surgiram ao longo da realização deste trabalho.

Aos colegas de mestrado por todo auxílio durante as aulas em especial Layanne de Oliveira Ferro e Leslie Waren Silva de Freitas pela amizade, pela ajuda com prazos/atividades do mestrado, pelos momentos alegres, de parceria e por toda a força.

Aos amigos e companheiros dos laboratórios de Controle Biológico/Cultura de tecido do IPA e Labfito da UFPE, por todos os momentos de descontração e pelas contribuições durante a realização dos experimentos, em especial cito, representando a todos, minha companheira de bancada Athaline Gonçalves Diniz, pela positividade, calma que traz consigo e pelos inúmeros ensinamentos. Sou grata à Emmanuelle Rodrigues de Araújo do IPA e ao Anderson Rodrigo da Silva do Instituto Federal Goiano pela ajuda com as análises estatísticas do atual trabalho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão do auxílio financeiro que possibilitou a dedicação integral ao programa de pós-graduação e viabilizou o desenvolvimento do atual estudo.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta pesquisa, o meu sincero agradecimento.

RESUMO

O feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp apresenta grande importância para o desenvolvimento agrícola de diversas regiões tropicais e subtropicais no mundo. No Brasil, constitui-se como um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente dentre populações menos abastadas, devido ao seu elevado teor de proteínas, carboidratos, ferro e outros minerais. Durante o período de plantio, colheita e armazenamento o feijão-caupi pode ser acometido por insetos-praga que comprometem o rendimento desta cultura. Dentre eles, destacam-se o *Callosobruchus maculatus* (caruncho-do-feijão) que causa danos aos grãos armazenados e o *Aphis craccivora* (pulgão-preto) que prejudica o desenvolvimento desta planta em campo. Os cupins são um dos principais insetos destruidores de madeira, além disso a espécie *Nasutitermes corniger* é reconhecida pelos danos econômicos que causa ao atacar fios, tecidos, livros, móveis de interior e várias espécies botânicas. O controle biológico, que se baseia na introdução ou no aumento populacional dos inimigos naturais de pragas e doenças, apresenta-se como uma alternativa menos prejudicial ao agroecossistema e à saúde humana em comparação ao uso de químicos, comumente utilizados no controle destes insetos. Assim, o presente estudo teve por objetivo selecionar espécies de *Trichoderma* eficientes no controle de três insetos-praga: *C. maculatus*, *A. craccivora* e *N. corniger* (cupim). Para tanto, suspensões de sete espécies fúngicas (*T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, *T. afroharzianum*, *T. atroviride*, *T. brevicompactum*, *T. breve* e *T. asperelloides*) na concentração 1×10^7 conídios/ml foram pulverizadas sobre os insetos, separadamente. Foram utilizados 20 insetos por repetição, totalizando 60 insetos por tratamento. Foram avaliadas as mortalidades diária e acumulada confirmadas. A mortalidade diária foi analisada durante cinco dias tanto para o pulgão quanto para o cupim e quinze dias para o caruncho, após a exposição ao fungo. As espécies *T. asperellum* (URM 7897 e URM 7902), *T. atroviride* (URM 8252 e URM 8253) e *T. asperelloides* (URM 7898) foram patogênicas à *C. maculatus* apresentando percentuais de mortalidade entre 50% e 90%, com destaque para URM7897 e URM7898. Os demais isolados apresentaram baixa ou nenhuma patogenicidade contra este inseto. Entretanto, a maioria das espécies de *Trichoderma* causaram elevados percentuais de mortalidade contra *A. craccivora*, em especial *T. asperellum* (URM 7897) e *T. atroviride* (URM 8251, URM 8253) que causaram mortalidade de 66,67%, 64,44% e 57,78%, respectivamente, no segundo dia de avaliação. Assim, URM 7897 e URM 8251 foram selecionados para testes futuros contra *A. craccivora* no campo. Quanto a *N. corniger*, a maioria dos isolados de *Trichoderma* apresentaram elevada patogenicidade, sendo selecionados URM 7895 de *T. afroharzianum* e URM 7902 de *T. asperellum*. As espécies de *Trichoderma* foram eficientes no controle dos insetos em laboratório, no entanto, estudos futuros são necessários para a análise da ação dos isolados em campo.

Palavras-chave: Biocontrole. Fungos. *Callosobruchus maculatus*. *Aphis craccivora*. *Nasutitermes corniger*.

ABSTRACT

The cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp has great importance for the agricultural development of several tropical and subtropical regions in the world. In Brazil, it constitutes one of the main components of the diet, especially among less affluent populations, due to its high content of proteins, carbohydrates, iron and other minerals. During the period of planting, harvesting and storage, cowpea can be affected by insect pests that compromise the yield of this crop. Among them, stand out the *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil) that causes damage to stored grains and the *Aphis craccivora* (black aphid) that harms the development of this plant in field. Termites are one of the main wood-destroying insects, in addition, the species *Nasutitermes corniger* is recognized for the economic damage it causes when attacking wiring, leather, fabrics, books, indoor furniture and various botanical species. Biological control, which is based on the introduction or increase in population of the natural enemies of insect pests, presents itself as a less harmful alternative to agro-ecosystem and human health in comparison to the use of chemicals, commonly used in the control of these insects. So, the present study aimed to select species of *Trichoderma* efficient in the control of three pest insects: *C. maculatus*, *A. craccivora* and *N. corniger*. For this purpose, suspensions of seven fungal species (*T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, *T. afroharzianum*, *T. atroviride*, *T. brevicompactum*, *T. breve* and *T. asperelloides*) at a concentration of 1×10^7 conidia / ml were sprayed on the insects. Twenty insects were used per repetition, totaling 60 insects per treatment. Confirmed daily and cumulative mortality were assessed. Daily mortality was analyzed for five days for both aphid and termite and fifteen days for cowpea weevil, after exposure to the fungus. Each experiment was repeated three times. The species *T. asperellum* (URM 7897 and URM 7902), *T. atroviride* (URM 8252 and URM 8253) and *T. asperelloides* (URM 7898) were pathogenic to *C. maculatus* with mortality rates between 50% and 90%, with prominence for URM7897 and URM7898. The other isolates showed low or no pathogenicity against this insect. However, most species of *Trichoderma* caused high percentages of mortality against *A. craccivora*, especially *T. asperellum* (URM 7897) and *T. atroviride* (URM 8251, URM 8253) which caused a mortality of 66.67%, 64.44 % and 57.78%, respectively, on the second day of evaluation. Thus, URM 7897 and URM 8251 were selected for future testing against this insect in the field. As for *N. corniger*, the majority of *Trichoderma* isolates showed high pathogenicity, with URM7895 of *T. afroharzianum* and URM7902 of *T. asperellum* being selected. The species of *Trichoderma* were efficient in controlling insects in the laboratory, however, further studies are necessary to analyze the action of isolates in the field.

Key-words: Biocontrol. Fungi. *Callosobruchus maculatus*. *Aphis craccivora*. *Nasutitermes corniger*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Pág.

Referencial Teórico

Figura 1 – Ciclo Biológico de <i>Callosobruchus maculatus</i>	19
Figura 2 – Vagens de feijão-caupi infestadas por <i>Aphis craccivora</i>	21
Figura 3 – Ciclo Biológico de <i>Nasutitermes Corniger</i> . Rei (A), rainha (B), ovos (C), alado (D), adulto (E), ergatoide (F), operário grande (G1) e operário pequeno (G2) e soldado (H).....	24

Método

Figura 4 – Manutenção da criação de <i>C. maculatus</i> . A) Sementes sadias de Feijão-caupi antes da transferência dos insetos. B) Transferência de alguns adultos para efetuarem a postura dos ovos. C) Emergência dos adultos.....	37
Figura 5 – Criação de <i>A. craccivora</i> em casa de vegetação. A) Plantas saudáveis de Feijão-caupi mantidas em casa de vegetação. B) Ninfas de <i>A. craccivora</i> infestando vagens do feijão-caupi.....	37

Artigo 1 - CONTROLE BIOLÓGICO DE *Callosobruchus maculatus* e *Aphis craccivora* POR ESPÉCIES DE *Trichoderma*

Figura 1 – Mortalidade confirmada de <i>Callosobruchus maculatus</i> por espécies de <i>Trichoderma</i> (15X). Crescimento micelial de <i>T. asperelloides</i> (A) e <i>T. asperellum</i> (B e C) sobre os insetos mortos.....	40
Figura 2 – Percentual de mortalidade acumulada confirmada de <i>Callosobruchus maculatus</i> durante quinze dias após exposição aos isolados de <i>Trichoderma</i> na concentração 1×10^7 conídios / mL ⁻¹ . A) Bioensaio 1: — <i>T. longibrachiatum</i> , — <i>T. asperellum</i> , — <i>T. afroharzianum</i> , — <i>T. atroviride</i> — <i>T. atroviride</i> — <i>T. atroviride</i> — <i>T. afroharzianum</i> — <i>T. atroviride</i> . B) Bioensaio 2: — <i>T. atroviride</i> — <i>T. breve</i> — <i>T. asperellum</i> — <i>T. asperelloides</i>	44
Figura 3 – Percentual de mortalidade acumulada confirmada de <i>Aphis craccivora</i> durante quinze dias após exposição aos isolados de <i>Trichoderma</i> na concentração 1×10^7 conídios / mL ⁻¹ . — <i>T. longibrachiatum</i> , — <i>T. asperellum</i> , — <i>T. afroharzianum</i> , — <i>T. atroviride</i> — <i>T. atroviride</i> — <i>T. atroviride</i> — <i>T. afroharzianum</i> — <i>T. atroviride</i>	46
Figura 4 – Mortalidade confirmada de <i>Aphis craccivora</i> por espécies de <i>Trichoderma</i> (15X). Crescimento micelial de <i>T. asperellum</i> (A) e <i>T. atroviride</i> (B) sobre os insetos mortos.....	47

Artigo 2- ENTOMOPATOGENICIDADE DE *Trichoderma* spp. CONTRA *Nasutitermes corniger* MOTSCHULSKY (BLATTODEA: TERMITIDAE)

Figura 1 – Mortalidade acumulada confirmada (%) of *N. corniger* durante cinco dias após aplicação de diferentes isolados de *Trichoderma* spp na concentração 1×10^7 conidia/mL⁻¹. **A)** Bioensaio 1:

— *T. longibrachiatum* — *T. asperellum* — *T. afroharzianum* — *T. atroviride* — *T. atroviride*
 — *T. atroviride* — *T. afroharzianum* — *T. atroviride* **B)** Bioensaio 2: — *T. atroviride* —
T. atroviride — *T. brevicompactum* — *T. breve* — *T. asperelloides* — *T. brevicompactum*
 — *T. asperellum*..... 54

Figura 2 – Mortalidade Confirmada de *Nasutitermes corniger* por espécies de *Trichoderma* (15X). Crescimento micelial de *T. afroharzianum* (A e B) e *T. asperellum* (C) sobre os insetos mortos..... 55

LISTA DE TABELAS

Pág.

Método

Tabela 1 – Espécies de <i>Trichoderma</i> provenientes de solos de sistemas agroflorestais, número de registro da micoteca URM e local de coleta do solo.....	35
---	----

Artigo 1- CONTROLE BIOLÓGICO DE *Callosobruchus maculatus* e *Aphis craccivora* POR ESPÉCIES DE *Trichoderma*

Tabela 1 – Mortalidade Diária Confirmada (porcentagem média $\pm$ desvio padrão DP) de <i>Callosobruchus maculatus</i> durante quinze dias de avaliação após a pulverização das suspensões de 1×10^7 conídios / mL-1 dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	41
---	----

Tabela 2 - Mortalidade Diária Confirmada (porcentagem média $\pm$ desvio padrão DP) de <i>Callosobruchus maculatus</i> durante quinze dias de avaliação após a aplicação das suspensões de 1×10^7 conídios / mL-1 dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	42
--	----

Tabela 3- Mortalidade Diária Confirmada (Porcentagem média $\pm$ Desvio padrão DP) de <i>Aphis craccivora</i> durante cinco dias de avaliação após a pulverização das suspensões de 1×10^7 conídios / mL-1 dos isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....	45
---	----

Artigo 2- ENTOMOPATOGENICIDADE DE *Trichoderma* spp. CONTRA *Nasutitermes corniger* MOTSCHULSKY (BLATTODEA: TERMITIDAE)

Tabela 1- Mortalidade diária Confirmada (porcentagem media $\pm$ Desvio Padrão DP) de <i>N. corniger</i> durante cinco dias de avaliação após aplicação da suspensão de 1×10^7 conidia/mL ¹ de <i>Trichoderma</i> spp.....	52
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AGROFIT	Sistema de Agrotóxico Fitossanitário
ANCOVA	Análise de Covariância
BDA	Batata dextrose ágar
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
IPA	Instituto Agrônômico de Pernambuco
UNEP	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS.....	15
1.1.1 Objetivo Geral.....	15
1.1.2 Objetivos Específicos.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 FEIJÃO-CAUPI (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) WALP)	16
2.2 IMPORTÂNCIA E DANOS CAUSADOS POR <i>Callosobruchus maculatus</i>	17
2.3 IMPORTÂNCIA E DANOS CAUSADOS POR <i>Aphis craccivora</i>	20
2.4 <i>NASUTITERMES CORNIGER</i>	22
2.5 CONTROLE DE INSETOS POR FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS.....	26
2.6 O GÊNERO <i>Trichoderma</i> PARA A AGRICULTURA.....	29
2.6.1 O uso de <i>Trichoderma</i> spp. no controle biológico de insetos.....	33
3 MÉTODO.....	35
3.1 ISOLADOS FÚNGICOS.....	35
3.2 PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> SPP. CONTRA <i>Callosobruchus maculatus</i> , <i>Aphis craccivora</i> E <i>Nasutitermes corniger</i>	36
3.2.1 Coleta e manutenção dos insetos.	36
3.2.2 Teste de patogenicidade.....	37
3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	39
4 CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>Callosobruchus maculatus</i> e <i>Aphis craccivora</i> POR ESPÉCIES DE <i>Trichoderma</i>.....	39
5 ENTOMOPATOGENICIDADE DE <i>Trichoderma</i> spp. CONTRA <i>Nasutitermes corniger</i> MOTSCHULSKY (BLATTODEA: TERMITIDAE)	50
6 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

O feijão é consumido por milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo cultivado tanto por pequenos quanto por médios e grandes produtores. No Brasil, a cultura do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) apresenta grande importância econômica e social, constituindo-se como principal fonte de proteína vegetal e ferro na alimentação da população (VALDERRAMA et al., 2009; DEVI et al., 2015). Além de apresentar grande importância na dieta humana e animal, o feijão-caupi também costuma ser utilizado como adubo verde, atuando na recuperação de solos que possuem baixa fertilidade natural ou esgotados pelo uso intensivo (DUTRA; TEÓFILO, 2007; DEVIDE et al., 2009).

Conhecido popularmente como feijão de corda, feijão macassar e feijão fradinho, o feijão-caupi, quando comparado a outras espécies cultivadas, possui considerável adaptação ao clima quente e à seca, desenvolvendo-se satisfatoriamente nas regiões Norte e Nordeste, agindo como um importante gerador de emprego e renda nessas áreas (FREIRE FILHO et al., 2011). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020) a safra de 2018/2019 encerrou o período com uma produção em torno de 637,3 mil toneladas e estima-se que, durante a safra 2019/2020 este número versará em torno de 607,1 mil de toneladas.

Durante o seu desenvolvimento e na fase de armazenamento, o feijão-caupi pode ser acometido e danificado por diversos insetos, ocasionando limitações no rendimento e na qualidade do grão desta cultura. Dentre estes agentes destacam-se o *Callosobruchus maculatus* Fabr. (Coleoptera: Chrysomelidae) em condições de armazenamento e o *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae), que, além de causar danos diretos à planta, pela sucção da seiva, também é responsável pela transmissão de alguns vírus, como o Potyvirus, cowpea aphid-borne mosaic virus (CpAMV) e o blackeye mosaic virus (BICpMV) (FREITAS et al., 2012). A infestação por *C. maculatus* pode ocorrer ainda no campo, onde as fêmeas depositam os ovos na superfície do grão e ao eclodirem as larvas penetram nas sementes para se alimentar e, posteriormente, tornar-se pupas. Devido a isto os grãos perdem peso à medida que as galerias são formadas pelas larvas, ocasionando a perda da viabilidade e a capacidade de germinação das sementes (GALLO et al., 2002; ILEKE, 2019), com fortes danos à comercialização.

Os cupins são insetos eussociais que apresentam papel ecológico fundamental na ciclagem de minerais e nutrientes no solo. Constantino (2002) aponta que, apesar da riqueza de espécies mundialmente conhecidas, apenas 10% destas apresentam-se como potenciais pragas urbanas e agrícolas, com características nocivas capazes de provocar prejuízos econômicos às populações humanas, podendo-se mencionar, por exemplo, *Nasutitermes corniger*

Motschulsky (Blattodea: Termitidae) como uma das principais espécies de importância deste gênero, devido aos grandes danos que ocasiona, atacando fios, couro, tecidos, madeiras de edificações e mobiliários internos. No Nordeste, principalmente em áreas urbanas do Estado de Pernambuco, é considerado como o principal cupim-praga da região (ALBUQUERQUE et al., 2014).

O controle químico desses insetos é o método mais aplicado, no entanto, a utilização abusiva destes produtos causa a contaminação e a degradação do meio ambiente. O uso de alternativas menos agressivas e, igualmente, eficientes são necessárias, como o biocontrole promovido por fungos entomopatogênicos.

Estudos demonstraram que espécies de *Trichoderma* podem promover o crescimento vegetal (DRUZHININA et al., 2011; CHAGAS et al., 2017), controlar fungos fitopatogênicos (HOWELL, 2003; ISAIAS et al., 2014; PÉREZ et al., 2017) e nematoides (SHARON et al., 2001; SAHEBANI; HADAVI, 2008; KATH et al., 2017). As espécies de *Trichoderma* apresentam diferentes mecanismos de ação, podendo atuar diretamente parasitando outros organismos ou indiretamente competindo por nutrientes e espaço. Além disso, quando presentes no solo, podem agir como biofertilizantes, auxiliando a planta durante todo o seu desenvolvimento, promovendo o crescimento das raízes e das partes aéreas por meio da produção de fito-hormônios como auxina e giberelina. Algumas espécies detêm a capacidade de produzir compostos que estimulam os mecanismos de defesa e resistência da planta, protegendo-a contra os ataques de diversos patógenos (HARMAN et al., 2004; NAWROCKA et al., 2018).

Devido à multifuncionalidade que estes fungos desempenham na natureza, o controle biológico de insetos é mais uma função que pode ser atribuída a algumas espécies de *Trichoderma*. Trabalhos anteriores atestaram a eficiência deste gênero no controle de: afídeos (GANASSI et al., 2001; IBRAHIM et al., 2011; KHALEIL et al., 2016; BEGUM et al., 2018), bicho-da-seda [*Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae)] (BERINI et al., 2015), mosca branca [*Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)] (ANWAR et al., 2016), mariposa [*Leucinodes orbonalis* Guen (Lepidoptera: Pyralidae)] (GHOSH; PAL, 2016), percevejo-das-camas [*Cimex hemipterus* Fabricius (Hemiptera: Cimicidae)] (ZAHRAN et al., 2017), os coleópteros *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) e *Xylotrechus arvicola* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2017) e mosquito do gênero *Anopheles*, vetor da malária (PODDER; GHOSH, 2019). Entretanto, a

análise do desempenho destes fungos no controle de insetos ainda é bastante escassa e pouco explorada, havendo a necessidade de mais estudos sobre o tema.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Selecionar espécies de *Trichoderma* eficientes no controle de *Callosobruchus maculatus*, *Aphis craccivora* e *Nasutitermes corniger*.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar a patogenicidade de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *C. maculatus*, *A. craccivora* e *N. corniger*.
- Selecionar os isolados de *Trichoderma* mais eficientes no controle de *C. maculatus*, *A. craccivora* e *N. corniger*.
- Avaliar a eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *A. craccivora* em casa de vegetação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) WALP)].

O feijão-caupi, apresenta-se como uma importante fonte de proteína na alimentação humana, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Esta leguminosa também detém elevado teor de fibras alimentares, vitaminas, minerais e apresenta baixa quantidade de lipídios, tais características colaboram para que esta cultura ganhe destaque e desempenhe papel fundamental na nutrição dos brasileiros, principalmente populações mais carentes do país (CARMONA et al., 1996; FROTA et al., 2008). Além do seu valor nutricional, esta cultura também apresenta forte apelo socioeconômico devido a sua elevada contribuição na geração de emprego e renda, conforme exposto por Costa et al. (2019).

O feijão-caupi, conhecido popularmente como feijão-de-corda ou macassar, possui origem Africana e foi introduzido no Brasil por portugueses, no território baiano, no século XVII. As características edafoclimáticas distintas (quente/úmida na região norte e quente/seca na região nordeste) foram adequadas e contribuíram para seu desenvolvimento e estabelecimento na região (ARAÚJO et al., 1984). Foi inicialmente classificado nos gêneros *Phaseolus* e *Dolichos*, devido à grande variabilidade genética existente na própria espécie, até ser classificado em 1894 no gênero *Vigna*. O feijão-caupi é uma planta Dicotyledonea, da ordem Fabales, da família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, seção Catyang, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata*, que está subdividida em cinco cultigrupos: *Unguiculata*, *Melanophthalmus*, *Biflora*, *Sesquipedalis* e *Textilis* (FREIRE-FILHO, 2015).

Todas as partes da planta podem ser utilizadas para consumo humano e/ou animal, desde as raízes até os grãos e vagens, podendo ser comercializado tanto na forma de grãos secos ou verdes quanto como vagem verde. Esta espécie também pode ser utilizada como adubo verde, sendo fonte de matéria orgânica e disponibilizando nitrogênio para recuperação de solos que possuem baixa fertilidade natural ou esgotados pelo uso intensivo (VIEIRA et al., 2000; DUTRA; TEÓFILO, 2007; DEVIDE et al., 2009). Além disso, também é usado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal, apresentando alta resistência à seca, baixa exigência nutricional e elevada adaptabilidade a solos arenosos (FREIRE FILHO et al., 2003).

A produção de feijão-caupi no Brasil concentrava-se principalmente na região nordeste e norte, no entanto, ela tem sido implantada com sucesso na região centro-oeste, onde é

incorporado aos arranjos produtivos como safrinha após as culturas da soja e do arroz, e, em alguns locais, como cultura principal (SILVA et al., 2009; FREIRE FILHO, 2011). Um dos fatores que beneficia o seu cultivo na região do cerrado é que esta cultura possui um custo muito competitivo, fato que tem elevado o interesse dos produtores por ela, ademais, a produção é de alta qualidade, o que possibilita que o produto seja bem aceito por comerciantes, agroindústrias, distribuidores e consumidores (FREIRE FILHO, 2011).

O feijão possui três safras, no qual durante a primeira safra o feijão-caupi é o terceiro tipo mais cultivado no país. Sua produção se concentra no Nordeste, mais particularmente no Piauí e Bahia. Estima-se que em relação à safra passada haverá uma diminuição de 6,6% de área plantada. A estimativa de produção é de 6.950 mil toneladas para a safra de 2018/2019, conforme dados fornecidos pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2019).

O feijão-caupi pode se desenvolver com sucesso em diversos tipos de solo e clima, no entanto durante o seu cultivo ou armazenamento pode ser acometido por alguns patógenos ou pragas, como fungos, bactérias, vírus, nematoides e insetos que afetam direta ou indiretamente o rendimento agrônômico da cultura. A ação desses organismos pode levar à morte de tecidos, órgãos, comprometendo a sanidade da planta e do grão causando perdas econômicas e ocasionando prejuízos consideráveis à cultura do caupi (QUINTELA et al., 1991; VALE et al., 2017). Dentre as pragas mais importantes destacam-se: Vaquinha *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae), a Mosca Branca *B. tabaci*, a Cigarrinha Verde *Empoasca kraemeri* Ross & Moore (Hemiptera: Cicadellidae), Mosca Minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanch (Diptera: Agromyzidae), o Pulgão Preto *A. craccivora* e *C. maculatus* (SILVA, 2016), sendo os dois últimos insetos o foco do presente estudo.

2.2 IMPORTÂNCIA E DANOS CAUSADOS POR *Callosobruchus maculatus*

De acordo com Faroni e Silva (2008), dentre as diversas ordens em que os insetos estão classificados, apenas nove foram relatadas causando danos a produtos armazenados; os insetos considerados pragas de grãos armazenados pertencem, basicamente, a cinco ordens, sendo duas destas - Coleoptera (pequenos carunchos) e Lepidoptera (mariposas ou traças) - as de maior relevância econômica e social.

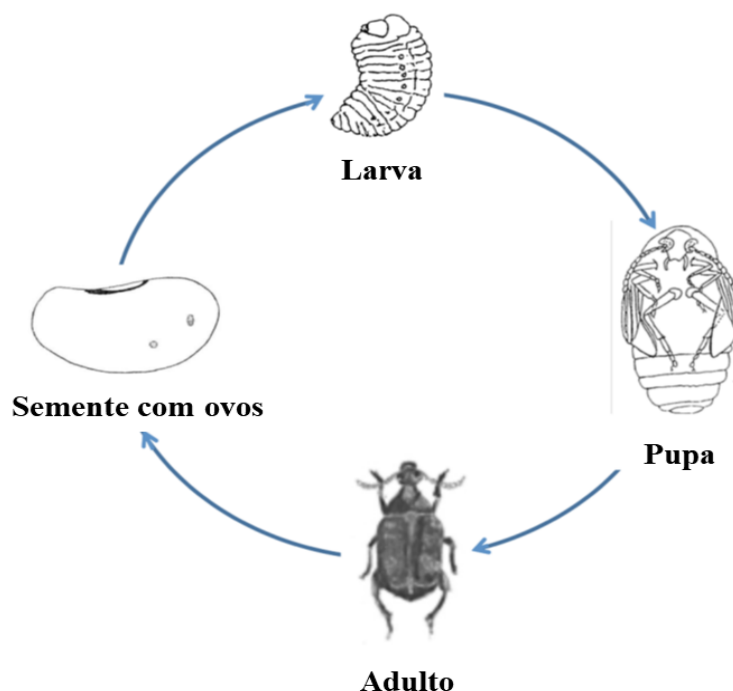
Os carunchos são pequenos e possuem o primeiro par de asas bastante resistente, chamado de élitros, o que proporciona sua movimentação e sobrevivência em grandes profundidades da massa de grãos, onde os espaços são reduzidos e o grão está muito comprimido.

Dentre as principais pragas que acometem o feijão-caupi, durante o período de armazenamento, o caruncho *C. maculatus* é considerado o mais importante, uma vez que a ação destes insetos pode ocasionar redução de até 100% do valor comercial destas sementes (QUINTELA et al., 1991; AKINKUROLERE; ADEDIRE; ODEYEMI, 2011). De origem africana esta espécie está presente tanto nas regiões tropicais quanto nas subtropicais do mundo (HAINES, 1989) e foi descrita por Fabricius em 1775. Atualmente, pertence à classe Insecta, ordem dos Coleoptera, família Chrysomelidae e subfamília Bruchinae (RIBEIRO-COSTA, 2009).

Estes insetos são classificados como pragas primárias internas, uma vez que são capazes de romper o grão para atingir o endosperma, do qual se alimentam. O seu desenvolvimento ocorre no interior dos grãos, o que possibilita a entrada de outros contaminantes, como fungos e bactérias, que inviabiliza a comercialização do feijão. O caruncho pode ter acesso ao feijão-caupi ainda no campo quando as fêmeas ovipositam sobre os grãos de vagens deiscentes, ou posteriormente quando as fêmeas voam até os depósitos de armazenamento presentes nas propriedades rurais e depositam seus ovos sobre a superfície dos grãos (MELO et al., 2014), dando início ao ciclo biológico do caruncho (Figura 1) (BARIBUTSA et al., 2019).

Os ovos apresentam formato assimétrico e coloração branca ou hialina, o que denota se estão viáveis ou inviáveis, respectivamente. Após a eclosão, as larvas (de coloração branca, cabeça marrom e formato curvilíneo) perfuram o tegumento da semente e danificam o cotilédone adjacente. Ao adentrarem o grão, iniciam o processo de alimentação, preparam-se para a metamorfose e durante esta ação diversas galerias são formadas devido à movimentação das larvas dentro da semente. O inseto sofre metamorfose completa passando por quatro instares larvais e pelas fases de pré-pupa, pupa e se aloja próxima à superfície do grão, sem rompê-lo formando uma “janela” por onde emergirá o adulto completamente formado (BECK ; BLUMER, 2014). O adulto mede cerca de 3mm de comprimento, possui coloração marrom-escuro com um par de manchas pretas nos élitros que em repouso formam um “X” (SILVA et al., 2005).

Figura 1- Ciclo Biológico de *Callosobruchus maculatus*.



Fonte: Adaptada de Baributsa et al. (2019).

Após a exteriorização, os adultos estão aptos à procriação, podendo a cópula ser efetuada poucos minutos após os insetos alcançarem o meio externo e a oviposição pela fêmea fecundada ser realizada até na hora seguinte. A fêmea possui comportamento de reprodução poliândrico, no qual acasala com mais de um macho, sendo capaz de depositar aproximadamente 80 ovos na superfície dos grãos (CREDLAND, 1987). Os machos têm longevidade média de 9 a 12 dias e as fêmeas de 10 a 14 dias, durante a vida adulta estes insetos não precisam se alimentar ou beber água (BECK; BLUMER, 2014; DEVI; DEVI, 2014).

Os danos resultantes da penetração e da alimentação das larvas no interior dos grãos provocam perdas de peso, redução da capacidade germinativa, do valor nutritivo e, conseqüentemente, desvalorização comercial. Além disso, a presença de ovos, insetos mortos e dejeções também comprometem a qualidade do produto (ALMEIDA et al., 2005; GALLO et al., 2002), contribuindo, também, com o aumento da umidade e da temperatura da massa das sementes tornando as condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, como os fungos (ADEBAYO; ADEGBENRO; HASSAN, 2019).

O controle químico de *C. maculatus* é realizado comumente por meio de expurgo em todo o material a ser estocado. Durante o processo são empregados defensivos fumigantes, no qual a fosfina (fosfeto de alumínio) é a mais utilizada, podendo ser realizada com os grãos a granel

ou ensacados (SILVA et al., 2005). Apesar de apresentar eficiência comprovada, o descumprimento das práticas corretas como a aplicação de subdosagens ou o desrespeito ao tempo mínimo de contato dos inseticidas, resultam num rápido ganho de resistência a estes produtos (DAGLISH et al., 2018). Soma-se a isso o fato de que fumigações frequentes elevam os custos de produção e podem acarretar em danos ao ambiente e à saúde humana (ALMEIDA et al., 2006).

2.3 IMPORTÂNCIA E DANOS CAUSADOS POR *Aphis craccivora*

Os afídeos (Hemiptera: Aphidoidea), comumente conhecidos como pulgões, são insetos sugadores fitófagos que, geralmente, apresentam tamanho variando de 2 a 5 mm. Algumas espécies podem utilizar recursos oriundos de um grupo específico de plantas de uma mesma família botânica, sendo portanto considerados monófagos, entretanto outros podem obter seus nutrientes de um grupo maior de plantas hospedeiras, de diversas famílias botânicas, sendo desta forma chamados de polífagos (ILHARCO, 1992).

O pulgão preto, como é mais conhecido o *Aphis craccivora*, é um inseto-praga cosmopolita, que acomete cerca de 50 espécies de plantas cultivadas que estão dispostas em 19 famílias, tendo no entanto uma maior associação com as representantes da família Fabaceae (CAPINERA, 2001; BLACKMAN; EASTOP, 2007), sendo considerada umas das principais pragas que limitam o cultivo do feijão-caupi na África, na Ásia e na América Latina (SINGH; JACKAI, 1985; PETTERSOSON et al., 1998). No Brasil, este hemíptera ocorre por todo o Nordeste, em especial durante o período em que há a ausência da chuva (LAVOR, 2006).

Os adultos de *A. craccivora* possuem coloração preta e brilhante, as ninfas podem variar de marrom claro a escuro e passam por quatro instares até atingir a fase adulta. Tanto os adultos quanto as ninfas de *A. craccivora* alimentam-se por meio da sucção da seiva presente nos brotos terminais e pecíolos das plantas. No caso de plantas jovens, eles provocam intensa deformação das folhas, atraso no desenvolvimento da planta, podendo em casos mais severos ocasionar sua morte (QUINTELA et al., 1991). O ataque destes insetos também pode se estender e causar infestações das vagens causando danos diretos ao feijão (Figura 2).

Figura 2- Vagens de feijão-caupi infestadas por *Aphis craccivora*



Fonte: A autora.

Enquanto se alimenta da seiva, o pulgão expele uma substância adocicada (honeydew) que serve de alimento para as formigas, que em troca conferem proteção aos hemípteros. Entretanto este líquido açucarado também pode servir de substrato para o desenvolvimento de um fungo (*Capnodium* sp.), conhecido comumente como fumagina, de coloração escura, que recobre a superfície das folhas ocasionando prejuízos à fotossíntese e a respiração, causando danos indiretos ao vegetal (SILVA; CARNEIRO; QUINDERÉ, 2005; LAAMARI et al., 2008). Estes insetos também atuam como vetores de alguns vírus, como o Cowpea aphid borne mosaic virus (CABMV) e o Cucumber mosaic virus (CMV) efetuando a transmissão da partícula viral apenas com a picada de prova, não necessitando que haja uma colônia de pulgões instalada na planta para que ocorra a contaminação (FREITAS et al., 2012).

A evolução na reprodução, realizada em grande parte por partenogênese, é um dos principais fatores que levaram ao sucesso dos afídeos. Durante a partenogênese a reprodução ocorre a partir de fêmeas virgens, na qual os óvulos sofrem completo desenvolvimento, sem terem sido fecundados (GALLO et al., 2002). A capacidade reprodutiva por partenogênese colabora para que os afídeos atinjam altos níveis populacionais e, quando na forma alada, migrem e se estabeleçam em outras áreas (ZANINI, 2004).

Segundo Bueno (2005), o ciclo curto deste inseto (aproximadamente 20 dias), a elevada taxa reprodutiva e a partenogênese contribuem para que os pulgões atinjam rapidamente níveis de danos bastante sérios em um cultivo. De acordo com Obopile (2006), a ocorrência desses hemípteros pode reduzir em até 50% o rendimento da cultura do feijão-caupi. Além dos fatores ligados à reprodução, há também o aumento do desenvolvimento de resistência a grande parte

dos produtos fitossanitários aplicados para o seu controle, já que uma vez adquirida a resistência a um determinado químico, os pulgões podem transmiti-la aos seus descendentes, colocando o controle químico não mais como método exclusivo de controle dessa praga (BUENO, 2005).

2.4 *NASUTITERMES CORNIGER*

Os cupins, também conhecidos como térmites ou térmitas, estão agrupados na infraordem Isoptera e inseridos na ordem Blattodea. Atualmente as 2.963 espécies descritas estão distribuídas entre nove famílias: Mastotermitidae, Hodotermitidae, Archotermopsidae, Kalotermitidae, Stylotermitidae, Stolotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae (KRISHNA et al., 2013; CONSTANTINO, 2019). Basicamente, a principal fonte nutritiva dos cupins é a celulose, desta forma a maioria das espécies alimenta-se de madeira em diversos estágios de decomposição. Entretanto, outros recursos alimentícios podem ser ingeridos por estes insetos como: húmus, líquens, fezes de herbívoros e fungos cultivados no interior dos ninhos (LIMA; COSTA-LEONARDO, 2007).

Os térmitas apresentam distribuição cosmopolita, podendo habitar desde florestas úmidas até savanas, sendo encontrados inclusive em regiões desérticas. Apesar de serem conhecidos por causar danos a materiais de interesse econômico para os humanos, atuando como pragas, os cupins em áreas de vegetação natural exercem um papel ecológico fundamental nos ecossistemas terrestres, atuando na decomposição e reciclagem de matéria orgânica, principalmente de origem vegetal (GOVORUSHKO, 2018). As atividades realizadas por estes insetos podem transformar tanto a estrutura quanto a porosidade do solo melhorando a aeração, propiciando uma maior infiltração da água e, com isso, aumentando a propagação das raízes vegetais. Alterações de textura e perfil do solo também mudam o teor de matéria orgânica e de nutrientes disponíveis para outros organismos (HOLT; LEPAGE, 2000; COSTA; LEONARDO, 2002; LEJOLY et al., 2019).

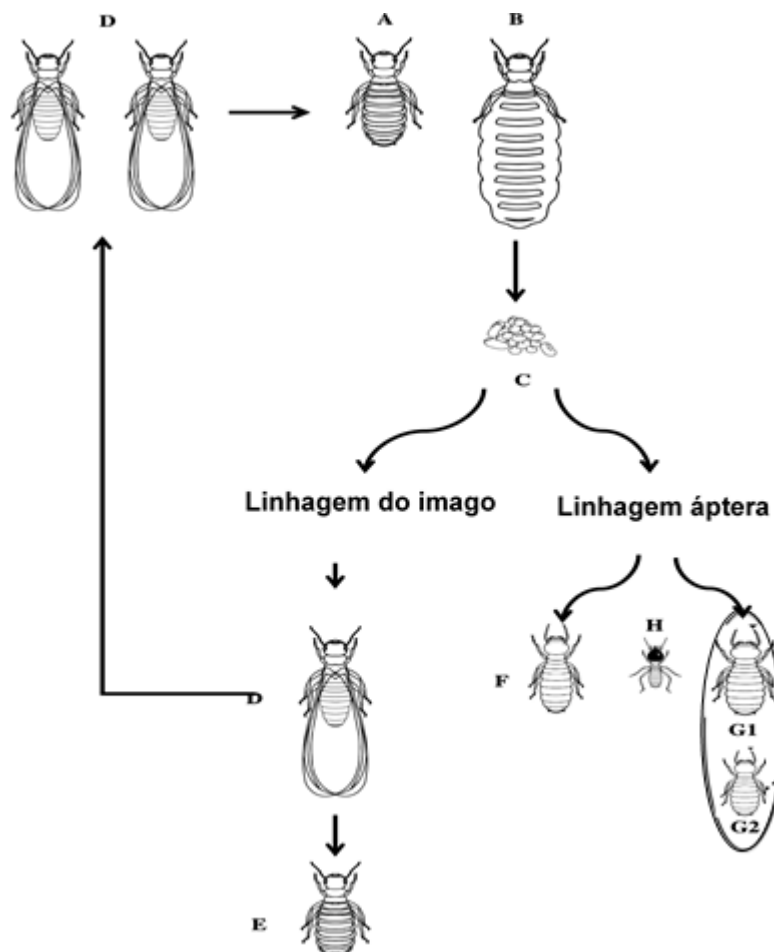
O gênero *Nasutitermes* apresenta distribuição mundial sendo considerado um dos mais ricos em espécies da família Termitidae. Cerca de 257 espécies compõem este gênero, sendo que 49 dessas ocorrem no Brasil em ambientes como caatingas, matas tropicais, cerrados, planícies e pastagens (ABREU et al., 2002; VASCONCELLOS et al., 2005; CONSTANTINO, 2019). Os organismos deste grupo costumam construir seus ninhos em troncos ou no sistema radicular de árvores, assim podem ser encontrados tanto acima quanto abaixo do nível do solo (SCHEFFRAHN et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2005). A construção dos ninhos ocorre

com a utilização de madeira mastigada e outros materiais, como areia cimentada com fluidos fecais e salivares (EMERSON, 1938; THORNE et al., 1996).

Nasutitermes corniger é uma espécie arborícola, nativa da América Central e do Sul que apresenta ampla distribuição geográfica no continente americano, sendo encontrada desde o México até o norte da Argentina (CONSTANTINO, 2002). Também há relatos da ocorrência deste táxon nos Estados Unidos (SCHEFFRAHN et al., 2002), na Nova Guiné (SCHEFFRAHN et al., 2005) e nas Bahamas (SCHEFFRAHN et al., 2006; EVANS et al., 2013). Na região Neotropical, *N. corniger* é a espécie do gênero *Nasutitermes* de maior dominância e distribuição. Tal espécie demonstra-se abundante principalmente em florestas secundárias que apresentam algum grau de perturbação (VASCONCELLOS et al., 2005) e em suas colônias podem ser encontrados cerca de 900,000 indivíduos (THORNE, 1984). Estes térmitas possuem elevada plasticidade alimentar podendo consumir tanto madeiras duras quanto moles, úmidas ou secas, de diversas espécies botânicas (ABREU et al., 2002; REIS ; CANCELLO, 2007).

A estrutura social destes insetos é constituída basicamente por três castas, morfofuncionais, distintas: os operários, os soldados e os reprodutores. Em Termitidae essa sociedade origina-se primeiramente de um estágio comum de desenvolvimento, do qual emergem simultaneamente duas linhagens, uma reprodutiva e uma áptera. A primeira originará os indivíduos alados, os reis e as rainhas. A segunda dará origem aos operários e aos soldados, conforme apresentado na figura 3 (LIMA et al., 2013). No ninho serão encontrados os operários formando a casta mais numerosa e se ocupando de todas as funções rotineiras tais como obtenção de alimento, construção e reparação dos ninhos e dos túneis, cuidando da prole e fornecendo comida às demais castas. Os soldados se encarregam da guarda do ninho e da proteção dos operários durante o forrageamento (VERMA et al., 2009). Durante a defesa do cupinzeiro, os soldados podem excretar através do nasus (presente na região anterior da cabeça) uma secreção pegajosa e irritante contra os inimigos (TRANIELLO, 1981; MCMAHAN, 1982; GAZAL et al., 2012). Segundo Verma et al. (2009), tanto os soldados quanto os operários são cegos e lucíferos, entretanto os imagos apresentam olhos bastante desenvolvidos e pigmentados. Por último, há os reprodutores que são os responsáveis pela geração de novos indivíduos e pela multiplicação das colônias (KRISHNA, 1969).

Figura 3- Ciclo Biológico de *Nasutitermes corniger*. Rei (A), rainha (B), ovos (C), alado (D), adulto (E), ergatoide (F), operário grande (G1) e operário pequeno (G2) e soldado (H).



Fonte: Boulogne et al. (2016), adaptada.

Além desses indivíduos, em um cupinzeiro ainda podem estar presentes os reprodutores secundários, conhecidos também como reprodutores suplementares, quando os reprodutores primários ainda estão presentes, ou de substituição, se estão ausentes. Os reprodutores secundários podem ser adultóides, quando são derivados de indivíduos alados que permaneceram no ninho natal, neotênicos ninfóides, quando são derivados de ninfas, ou neotênicos ergatóides, se derivados de operários (ROISIN, 2000). Ao atingirem a maturidade, uma grande quantidade de indivíduos alados sai das colônias e alçam voos nupciais crepusculares em massa (35% dos biomassa da colônia e 5000 a 25.000 indivíduos em média), geralmente após a chuva (THORNE, 1983). Então, casais reais são formados e ao encontrarem lugares úmidos com alimento disponível, perdem suas asas e dão início a construção de um novo ninho, permanecendo juntos durante todo o ciclo de vida da colônia. As rainhas apresentam abdômen fisogástrico o que possibilita a produção e a acomodação dos ovos, assim

são capazes de depositar aproximadamente 3000 ovos por dia e podem viver até 25 anos (SCHEFFRAHN et al., 2005; BOULOGNE et al., 2016).

O progressivo processo de urbanização tem avançado sistematicamente sobre áreas agrícolas e de vegetação natural provocando transformação gradual ou súbita do habitat dos cupins (CONSTANTINO, 2002; ALBUQUERQUE et al., 2014). Estas alterações podem, por vezes, ocasionar a erradicação de espécies nativas de térmitas e ao mesmo tempo favorecer a seleção e a instalação de outras espécies exóticas que progressivamente adquirem o status de praga. Segundo Constantino (2002), na América do Sul cerca de 77 espécies de cupins são relatadas como pragas sendo que entre estas 40 são pragas estruturais. O autor também aponta que vinte e duas espécies são consideradas pragas urbanas, trinta e quatro agrícolas e doze agrícolas e urbanas, sendo *N. corniger* uma das espécies de destaque neste cenário (COSTA-LEONARDO, 2002).

Os cupins podem causar perdas econômicas por danificar estruturas como edifícios, pontes, represas e estradas; ou danificando culturas agrícolas, espécies florestais ou pastagens. A condição de praga é determinada com base no impacto econômico dos danos ocasionados, expresso em custos de prevenção, controle e reparo dos prejuízos (ROBINSON, 1996). Um levantamento efetuado em 2005 demonstrou que os prejuízos causados pela ação dos cupins sobre madeiras e outros materiais contendo celulose ficou estimado por volta de US\$ 50 bilhões, gasto mundialmente (KORB, 2007). Estima-se que o custo investido em danos e reparos ocasionados pelos cupins na Austrália esteja por volta de mais de 100 milhões (dólares australianos) a cada ano. Para os Estados Unidos mais de US \$ 1 bilhão (US) é gasto anualmente para o gerenciamento de problemas com cupins em edifícios e outras estruturas. Na China os danos econômicos causado por estes insetos excedem \$ 1 bilhão (US) por ano, enquanto que no Japão o custo de prevenção e controle de infestações por cupins alcança pelo menos 800 milhões (US \$) por ano (UNEP, 2000).

O controle destes insetos tem sido efetuado utilizando inseticidas organofosforados e piretróides, que têm como princípio ativo o fipronil, o dichlorvos e a bifentrina, respectivamente (CABRERA, 2001; BOULOGNE et al., 2016). Tais químicos podem ser tóxicos ao homem e a outros seres vivos, além de apresentarem considerável risco de contaminação ambiental (MARICONI et al., 1999). Também vale ressaltar que estes métodos desconsideram o comportamento social dos cupins o que pode causar a redução da sua eficácia (ALMEIDA ; ALVES, 1995). Dessa forma, alternativas menos nocivas ao meio ambiente têm sido desenvolvidas e ganhado destaque como o emprego de técnicas de controle biológico.

2.5 CONTROLE DE INSETOS POR FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Apesar da imensa diversidade de insetos presentes nos mais variados ecossistemas, apenas uma pequena parcela destes organismos apresentam algum potencial nocivo à população humana, atuando como pragas. Para Brechelt (2004) o termo “praga” deve ser empregado a organismos (animais, plantas ou micro-organismos) que exibem um aumento da sua densidade populacional, alcançando níveis anormais, afetando direta ou indiretamente a espécie humana. Diversas atividades desenvolvidas pelos humanos podem contribuir para que novas espécies adquiram o *status* de praga, dentre as quais destacam-se: o desmatamento, acarretando a perda de habitat por estes organismos; a utilização de insumos químicos nas plantações, que promovem o desequilíbrio populacional entre o inseto-praga e os seus inimigos naturais; o aumento descontrolado da população humana; as monoculturas, entre outros fatores que podem favorecer a reprodução de algumas espécies (FINKLER, 2012).

Embora alguns avanços tenham sido alcançados na área de manejo integrado de pragas e doenças, o modelo de intervenção com agroquímicos ainda é o que prevalece. Entretanto, os malefícios desses químicos são notórios uma vez que estes produtos permanecem por bastante tempo nos ecossistemas contaminando o solo, a água e os alimentos consumidos pelos animais e pela população humana. Os agrotóxicos podem ainda ocasionar intoxicação nos agricultores, resistência de patógenos e pragas; provocam o desequilíbrio biológico alterando tanto a ciclagem de nutrientes quanto da matéria orgânica e, no mais, causam a eliminação de organismos benéficos acarretando a redução da biodiversidade (MORANDI; BETTIOL, 2009). Neste cenário, o controle biológico surge como um dos métodos mais promissores no processo de redução do uso desses insumos agrícola.

O controle biológico baseia-se na introdução ou no aumento populacional de inimigos naturais (parasitóides, predadores e micro-organismos) os quais atuam impedindo que as populações de insetos-pragas atinjam um número suficiente para causar prejuízos econômicos, mantendo-a em equilíbrio (GALLO et al., 1970; SIMONATO et al., 2014). Segundo Wraight e Hajek (2009) grande parte dos agentes microbianos podem ser produzidos *in vitro* em escala industrial. Além disso, o emprego destes organismos no biocontrole exibe baixo impacto ambiental uma vez que, geralmente, há um menor risco de afetarem organismos não-alvos. Soma-se a isso o fato de não deixarem resíduos tóxicos na lavoura, nas águas, ou no solo e, consequentemente, não causam desequilíbrios ou intoxicação ao consumidor e ao agricultor que o aplica na lavoura (LACEY et al., 2011).

Os fungos estão dentre os principais patógenos de insetos, segundo Alves (1986). Estes organismos apresentam ampla distribuição na natureza, podendo ser encontrados em diversos habitats, ocupando desde ambientes naturais bem preservados, até áreas sob constante influência antrópica, como regiões agrícolas, de pastagens ou urbanas (SÁNCHEZ-PEÑA et al., 2011; HOWE et al., 2016; LIMA et al., 2017; LORENCETTI et al., 2017). De acordo com Alves et al. (2008) os fungos entomopatogênicos são capazes de intervir no crescimento populacional dos inseto-pragas em várias fases do seu ciclo de vida, dado que, muitas vezes, apresentam a capacidade de infectar todos os estágios de desenvolvimento dos hospedeiros. Para além do controle populacional de insetos, estudos têm demonstrado diversos outros papéis desempenhados por estes organismos, incluindo endofitismo, antagonismo de doenças de plantas, promoção de crescimento de plantas e colonizadores da rizosfera (LACEY et al., 2015; JABER; OWNLEY, 2018).

Diversas vias de entrada podem ser utilizadas pelos fungos para penetração e posterior colonização do inseto. A forma mais comum é através do tegumento, no qual, inicialmente, os esporos fúngicos que se aderem à cutícula do inseto. Posteriormente, os conídios germinam e originam uma hifa que é responsável por transpor a cutícula do inseto, utilizando tanto força mecânica quanto a ação de enzimas secretadas pelo fungo (SRIVASTAVA et al., 2009; ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013, 2016). Ao adentrarem, multiplicam-se rapidamente ocupando todo o corpo do hospedeiro e, durante este processo, secretam toxinas que destroem os tecidos dos organismos parasitados, causando desnutrição e distúrbios fisiológicos, acarretando a morte do indivíduo. Após a morte do hospedeiro, o fungo se desenvolve e esporula sobre o cadáver do animal, assim, os propágulos fúngicos exteriorizados podem ser dispersados pelo vento, pela água da chuva ou por outros insetos e, deste modo, reintroduz o inoculo no sistema fungo-inseto (ALVES et al., 1986; GOETTEL; INGLIS, 1997; VALICENTE, 2009). Esta forma de penetração confere vantagem a estes organismos quando comparados a outros grupos de patógenos que só adentram o inseto por via oral (ALVES et al., 2008).

São conhecidas aproximadamente 750 espécies de fungos entomopatogênicos, sendo os gêneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Akanthomyces* (= *Lecanicillium* = *Verticillium*), *Cordyceps* (= *Isaria* = *Paecilomyces*), *Nomuraea*, *Entomophthora* e *Aschersonia* os mais empregados em programas de controle biológico e mais usados comercialmente na formulações de micoinseticidas e micoacaricidas (FARIA ; WRAIGHT, 2007; ALVES et al., 2008; VEGA et al., 2009; AUGUSTIN et al., 2011; LACEY et al., 2015; BUTT et al., 2016).

Os afídeos são vulneráveis aos fungos entomopatogênicos, sendo considerados por alguns autores, como um dos mais susceptíveis às doenças epizooticas em comparação aos demais grupos de insetos (MILNER, 1997; ROY et al., 2010; ALLAN et al., 2016). Segundo Humber (1991), os Zygomycetes [redefinidos como Entomophthoromycota, inseridos na ordem Entomophthorales (TEDERSOO et al., 2018)] atuam naturalmente no controle de afídeos. Apesar de serem encontrados comumente causando infecções nesses hemípteros, a produção massiva das espécies desta ordem é inviável, assim alguns gêneros anamórficos, como *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* e *Lecanicillium* tornam-se mais adequados para serem utilizados no controle destes afídios, inclusive contra *A. craccivora*, uma vez que desenvolvem-se com certa facilidade em meios de cultura artificiais, como grãos de arroz. Estes meios são substratos simples e econômicos para a obtenção de biomassa com abundante produção de propágulos (RABINOVITCH et al., 1998).

Alguns produtos que são empregados no manejo das espécies de afídeos na Europa e na América do Norte têm como base alguns dos gêneros supracitados, por exemplo: *Beauveria bassiana* Balsamo Vuillemin (registrado como BonatiGard® e Naturalis-L®), *Metarhizium anisopliae* Metschn (registrado como Met52®), *Isaria javanica* Frieder. & Bally (registrado como Preferal®) e *Lecanicillium* spp. (registrado como Vertalec®) (ALLAN, 2016; MWEKE, 2018).

O sucesso de fungos entomopatogênicos no controle de insetos que acometem produtos durante o seu armazenamento foi registrado tanto em condições de laboratório quanto de campo (LACEY et al., 2015; BATTA; KAVALLIERATOS, 2017; WAKEFIELD, 2018). Estes fungos também foram utilizados como forma preventiva para tratar depósitos vazios com propósito de remover pragas residuais antes que uma nova colheita pudesse ser trazida (STEENBERG, 2005).

A maioria dos estudos demonstra, principalmente, os diversos níveis de virulência de alguns isolados de *B. bassiana* (CHERRY; ABALO; HELL, 2005; CHERRY et al., 2007; SHAMS et al., 2011; MAHDNESHIN et al., 2011) e de *M. anisopliae* (CHERRY; ABALO; HELL, 2005; MURAD et al., 2008; MAHDNESHIN et al., 2011) contra *C. maculatus*. No trabalho de Cherry, Abalo e Hell (2005), os autores demonstram que a primeira espécie fúngica apresentou maior virulência do que a segunda no controle do coleóptero. Em contrapartida, pesquisas anteriores como as de Vilas Boas et al. (1996) e Lawrence e Khan (2002) apontaram que os isolados de *M. anisopliae* causaram maior mortalidade do que de *B. bassiana*. Estas mesmas espécies de fungo foram testadas contra *Rhyzopertha domonica* F. (Coleoptera:

Bostrychidae), *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera: Tenebrionidae) e *C. maculatus*, sendo este último o mais susceptível dentre todos os insetos avaliados (ABDU-ALLAH et al., 2015).

A organização social dos cupins é um fator importante na disseminação de fungos entomopatogênicos dentro da colônia, o que pode contribuir para o controle desses insetos. Além disso, tanto a temperatura quanto a umidade constantes e a condição de escuro nas galerias subterrâneas destes térmitas, também favorecem o crescimento e desenvolvimento das espécies fúngicas. Todavia, as ações defensivas dos cupins, como a remoção e isolamento dos indivíduos contaminados pelos fungos, o enterro dos cupins mortos junto com secreções defensivas e componentes inibidores, além da possibilidade de resistência humoral pode limitar a disseminação da doença dentro do cupinzeiro (RATH, 2000; MELLO et al., 2016).

As espécies *B. bassiana* e *M. anisopliae* demonstraram resultados promissores no controle de cupins das espécies *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae) (LAI et al., 1982; DELATE et al., 1995); *Cornitermes cumulans* Kollar (Isoptera: Termitidae) (ALVES et al., 1995; NEVES; ALVES, 1999; FERNANDES; ALVES, 1992; TOSCANO et al., 2010) e *Nasutitermes coxipoensis* Holmgren (Isoptera: Termitidae) (ALBUQUERQUE et al., 2005; CUNHA et al., 2009). Hanel (1981) testou a patogenicidade de *M. anisopliae* contra *Nasutitermes exitiosus* Hill (Isoptera: Termitidae) e observou que após 11 dias mais de 95% dos térmitas foram mortos pelo fungo. De forma similar, Rath e Tidbury (1996) também avaliaram a ação de *M. anisopliae* contra *N. exitiosus* e *Coptotermes acinaciformis* Froggatt (Isoptera: Rhinotermitidae), com 100% de mortalidade dos operários após o quarto dia de aplicação do fungo. Segundo Wright et al. (2002), *M. anisopliae* e *B. bassiana* ocasionaram mortalidade significativa de *C. formosanus*, porém a segunda espécie fúngica causou maior mortalidade do que a primeira. Meikle et al. (2005) relataram que o isolado de *Cordyceps fumosorosea* (= *Isaria fumosorosea*) testado contra *C. formosanus* obteve maior virulência do que os isolados de *B. bassiana* e o formulado comercial de *M. anisopliae* (Bioblast). Algumas espécies do gênero *Cordyceps* (= *I. farinosa*, *I. javanica* *I. fumosorosea*), obtidas de coleções fúngicas, foram testadas contra *N. corniger*, de acordo com Lopes et al. (2017). Segundo estes autores *C. farinosa* conquistou os melhores resultados, causando a morte de 95% dos operários e 85% dos soldados.

2.6 O GÊNERO *TRICHODERMA* PARA A AGRICULTURA

O gênero *Trichoderma*, fase imperfeita de *Hypocrea*, pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe dos Ascomycetes, Ordem Hypocreales, família Hypocreaceae (KIRK,

2012). Nesta mesma ordem estão reunidas diversas espécies que são usualmente utilizadas no controle biológico de insetos, como: *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *C. fumosorosea* (= *I. fumosorosea*), *Akanthomyces* spp. (= *Lecanicillium* spp.) (Cordycipitaceae) e *Metarhizium* spp. (Clavicipitaceae) entre outros (FARIA; WRAIGHT, 2007). Este gênero foi descrito inicialmente por Persoon em 1974, sendo constituído somente por uma espécie denominada *T. viride* Pers. Segundo Bisset et al. (2015) este gênero é constituído por 254 espécies descritas.

As espécies deste gênero são isolados em diversos ambientes, em quase todos os tipos de solo, podendo ser encontrados em associações com outros fungos, com raízes de diversas espécies botânicas e em matéria orgânica em decomposição. O isolamento desses fungos também foi realizado de fontes inesperadas, como baratas (YODER et al., 2008), mexilhões marinhos e mariscos (SALLENAVE et al., 1999; SALLENAVE-NAMONT et al., 2000) ou do trato gastrointestinal de cupins (SREERAMA; VEERABHADRAPPA, 1993; MATHEW et al., 2012). Ademais, são fungos que podem ser facilmente isolados, cultivados e multiplicados (DRUZHININA et al., 2006; ATANASOVA; DRUZHININA; JAKLITSCH, 2013). *Trichoderma* spp. são caracterizados por seu rápido crescimento, por apresentarem conídios verdes brilhantes e conidióforos bastante ramificados (GAMS; BISSETT, 1998).

O gênero *Trichoderma* é amplamente utilizado devido a seus múltiplos benefícios para a agricultura (ESPOSITO; SILVA, 1998). Mais de 50 produtos à base de espécies de *Trichoderma* são produzidos e vendidos mundialmente, sendo sua utilização recomendados para diversas culturas, podendo ser empregados tanto nas partes aéreas da planta por meio de pulverização quanto no tratamento sementes (POMELLA; RIBEIRO, 2009). No Brasil, cinco produtos foram registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) à base de *Trichoderma*, no qual três deles estão registrados como fungicida microbiológico (AGROFIT, 2019). Parnell et al. (2016) afirma que microorganismos revolucionarão a agricultura nas próximas décadas para atender a demanda do crescimento populacional. Produtos promissores e de grande interesse para o setor agrícola serão, principalmente, aqueles que contribuem para o aumento da produtividade das culturas e que sejam seguros tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana, como é o caso de *Trichoderma* spp.

Espécies de *Trichoderma* são o agente de controle biológico de doenças de plantas mais estudados e utilizadas tanto no Brasil quanto em outros países da América Latina (MORANDI; BETTIOL, 2009). A principal aplicação deste fungo na agricultura é na área de proteção de plantas contra patógenos, atuando como fungicida biológico. As espécies desse gênero apresentam uma gama de mecanismos que as auxiliam nesta função, como: o parasitismo, a

antibiose, a competição tanto por nutrientes quanto por espaço e a indução de resistência (MACHADO et al., 2012).

Ao atuarem como micoparasitas, estes fungos apresentam a capacidade de reconhecer as hifas de outras espécies fúngicas, como de fitopatógenos, e crescer em sua direção, agindo, presumivelmente em resposta a estímulos químicos gerados pela hifa hospedeira. Quando em contato com estas hifas, envolvem-se em torno delas e desenvolvem estruturas para a penetração denominada apressório, que liberam enzimas, como glucanases, quitinases e proteases que são responsáveis por degradar a parede celular, facilitando o acesso do parasita ao conteúdo das hifas do hospedeiro, para então poder utilizá-lo como fonte nutricional (HARMAN et al., 2004).

No mecanismo de antibiose os antagonistas secretam metabólitos que inibem o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos (BENÍTEZ et al., 2004). *Trichoderma* spp. podem produzir uma variedade de antibióticos, como gliovirina, gliotoxina, viridina, viridol, coninginas, pironas e peptaibols (peptídeos antibióticos), contra fungos maléficos à planta (HOWELL, 2003; HARMAN et al., 2004).

Vários estudos comprovam a eficácia *Trichoderma* spp. no controle de doenças de plantas (HARMAN, 2000; LUCON et al., 2009; CAVERO et al., 2015; HADDAD et al., 2017, SINGH et al., 2018; BUNBURY-BLANCHETTE; WALKER, 2019). Em estudo desenvolvido Silva et al. (2011), dezenove isolados de *Trichoderma* reduziram em até 88,39% os danos causados por *Colletotrichum lagenarium* Pass. Várias espécies do gênero foram eficazes no controle de *Colletotrichum musae* Berk. & M.A. Curtis (BONETT et al., 2013). A ação antagonista de *Trichoderma* spp. também foi observada contra *Colletotrichum lindemuthianum* Sacc. & Magnus encontrado causando antracnose no feijoeiro (ALVES; NUNES, 2016).

Isolados de *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg reduziram aproximadamente 60% do crescimento, *in vitro*, de *Pythium myriotylum* Drechsler, agente causador da podridão de raiz em *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott, sendo a análise realizada por meio do método de pareamento de cultura. Posteriormente, usando suspensões de conídios para testes *in vivo*, tais isolados diminuíram em mais de 50% a incidência da doença (MBARGA et al., 2012). Souza (2013) analisou espécies de *Trichoderma* contra *Guignardia citricarpa* [= *Phyll osticta citricarpa* (McAlpine)], agente causal da pinta preta dos citros, demonstrando a inibição do crescimento do fitopatógeno por meio da liberação de metabólitos voláteis. Ademais, o fungo antagonista demonstrou superioridade no crescimento, a capacidade de micoparasitar e a liberação de quitinases contra o fitopatógeno.

Trichoderma spp. também são relatados como controladores de fitopatógenos que são capazes de permanecer no ambiente por longos períodos por meio da formação de estruturas de resistência denominadas esclerócios. Pacheco et al. (2016) observaram tanto a inibição da germinação de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *in vitro* quanto a redução da doença em plantas de feijão cultivadas em casa de vegetação. Assim como Abbas et al. (2017) que demonstraram a ação de diversas espécies deste gênero contra *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, que é responsável por causar o tombamento de plantas e ocasionar prejuízos econômicos à várias culturas.

Além de agir como fungicidas biológicos, diversas pesquisas demonstraram outras formas de ação de *Trichoderma* que contribuem para o melhoramento das plantas e que aumentam a produtividade das culturas. Estas linhas de pesquisa demonstram que estes fungos agem como estimuladores do crescimento (PEREIRA et al., 2019) podendo aumentar tanto a parte aérea das plantas quanto modificar a arquitetura do sistema radicular por meio da produção de hormônios vegetais como, auxina, giberelina, citocianina, ácido abscísico e etileno (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009; LÓPEZ-BUCIO et al., 2015; GUZMÁN-GUZMÁN et al., 2018). Alguns isolados de *Trichoderma* spp. aumentaram o desenvolvimento das raízes secundárias de *Arabidopsis thaliana* L. Heynh, em ensaios *in vitro*, apesar de terem influenciado negativamente no crescimento das raízes primárias (NIETO-JACOBO et al., 2017). Um crescimento significativo de alface, rabanete e no rendimento de grãos de quinoa foi observado por meio da ação do ácido indolacético (AIA) produzido por *Trichoderma harzianum* (ORTUÑO et al., 2017). Em casa de vegetação, a inoculação de *T. asperellum* no solo causou aumento no tamanho das plantas de no mínimo 60% nas culturas da soja, feijão-caupi, arroz e milho (CHAGAS et al., 2017).

Espécies deste *Trichoderma* também são capazes de induzir resistência nas plantas (MACHADO et al., 2012; WAGHUNDE et al., 2016). A indução de resistência é um mecanismo de controle biológico indireto, no qual a planta responde à agressão de patógenos por meio da ativação de mecanismos latentes de resistência. Tal processo ocorre quando a espécie botânica é exposta a um agente indutor (biótico ou abiótico) e tem seus mecanismos de defesas ativados, não somente no local de indução, mas também em outras regiões distantes, de forma mais ou menos generalizada (ROMEIRO, 1999). Durante a ativação a planta pode produzir fitoalexinas, lignina adicional e compostos fenólicos (HORSFALL; COWLING, 1980; BAILEY, 1985; AMORIM et al., 2011).

Trichoderma spp também produzem ácidos orgânicos como ácido glucônico, ácido fumárico e ácido cítrico, que diminuem o pH do solo favorecendo a dissolução do fosfato, bem como a dissolução de outros macro e micronutrientes, como ferro, manganês e magnésio, necessários para o metabolismo das plantas (BROTMAN et al., 2010; OCIEPA, 2011).

Outra aplicação de *Trichoderma* é na biorremediação (HASAN, 2016), na qual há a degradação ou a transformação de contaminantes em substâncias que não oferecem perigo ou são menos ofensivas ao ambiente e a saúde humana, fazendo-se uso de microorganismos como bactérias, fungos, algas e plantas. *Trichoderma* spp. são resistentes a uma ampla gama de substâncias tóxicas, como metais pesados, compostos organometálicos, efluentes de curtumes e produtos químicos nocivos, como o cianeto (CN) (EZZI E LYNCH, 2005).

Alguns isolados de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* apresentaram potencial para serem utilizados em processos de biorremediação de herbicidas triazínicos, uma vez que eles foram isolados de solo contaminado com atrazina e atrazina + simazina (COLLA et al., 2008). RAMOS (2014) observou que um isolado de *T. harzianum*, obtido de uma região de cultivo (hortaliças, milho, feijão e macaxeira) com histórico de aplicação de agrotóxicos, é bastante tolerante a clorpirifós (organofosforado). Esta mesma espécie fúngica demonstrou elevada resistência e a capacidade de degradar 68% do tebuconazole, um fungicida empregado na preservação da madeira (OBANDA, 2008). *Trichoderma* sp. também foi capaz de biodegradar o pentaclorofenol (PCP), outra substância utilizada em agrotóxicos destinados à indústria madeireira (SING et al., 2014). Além dos agrotóxicos, eles degradam e metabolizam hidrocarbonetos aromáticos (petróleo, BTEX e resinas), apresentando potencial na biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos pesados (ZAFRA; CORTÉS-ESPINOSA, 2015).

2.6.1 O uso de *Trichoderma* spp. no controle biológico de insetos

Apesar de muitas espécies de *Trichoderma* serem relatadas como parasitas ocasionais de invertebrados, o potencial entomopatogênico destes fungos ainda permanece pouco explorado e subestimado (VERMA et al., 2007). Entretanto, apesar de escassos, alguns trabalhos demonstraram a sua ação inseticida.

Isolados de *Trichoderma harzianum* causaram mortalidade de *Schizaphis graminum* Rondani (Hemiptera: Aphididae), com variação nos resultados obtidos. Um dos isolados causou a morte das larvas deste afídeo após dez minutos de exposição ao fungo. Com relação as ninfas, a mortalidade foi considerada significativa a partir da primeira e da décima oitava hora, para as

linhagens aladas e ápteras, respectivamente (GANASSI et al., 2001). Elevados percentuais de mortalidade (95%) do percevejo-das-camas (*Cimex hemipterus*) foram causados por *T. harzianum* após o décimo quarto dia de avaliação (ZAHARAN et al., 2017). A ação inseticida desta espécie fúngica também foi relatada por Begum et al. (2018) contra o afídeo da roseira, no qual o percentual máximo de mortalidade (93%) foi analisado após doze horas de exposição ao fungo.

Um isolado transgênico de *Trichoderma koningii*, que recebeu o gene *chit42* de *Metarhizium anisopliae*, ocasionou maiores índices de mortalidade tanto a broca asiática (*Ostrinia furnacalis*) quanto ao bicho-da-seda (*Bombyx mori*) quando comparados ao isolado selvagem (LI et al., 2012). Os insetos tiveram contato com os esporos fúngicos por meio da alimentação. Os autores afirmaram que houve a inibição da expressão de três genes associados ao desenvolvimento e à resposta anti-estresse no intestino médio das larvas que foram alimentadas com biomassa transgênica. Empregando uma metodologia similar a do trabalho anterior, Berini et al. (2015) analisaram o efeito de uma mistura comercial de enzimas quitinolíticas, derivadas de *T. viride*, sobre a membrana peritrófica, presente no trato gastrointestinal do bicho-da-seda (*Bombyx mori*). De acordo com os autores a administração oral da quitinase, na dose mais alta testada, prolongou a fase larval, afetou significativamente o peso da pupa e causou danos (rupturas) comprometendo a integridade da rede de fibrilas da membrana peritrófica.

Trichoderma longibrachiatum foi relatado como patógeno de *Aphis craccivora* (IBRAHIM et al., 2011). Esta espécie também foi isolada da cochonilha do algodão, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae), e testada contra a mosca branca (*B. tabaci*) por Anwar et al. (2016). Os maiores valores de mortalidade foram observados contra as ninfas de quarto instar (73%), após a aplicação da maior concentração avaliada pelos pesquisadores. Em ensaios realizados em campo utilizando *T. longibrachiatum* contra a mariposa *Leucinodes orbonalis* Guen (Pyrilidae: Lepidoptera), Ghosh e Pal (2016) afirmaram que o rendimento na cultura da berinjela foi 56,02% maior na área tratada com fungo em comparação ao controle.

Segundo Khaleil et al. (2016), *T. hamatum* foi eficiente no controle de *Aphis gossypii* apresentando percentuais de mortalidade superiores a 60% após o quinto dia de avaliação. Na pesquisa, por meio da avaliação histológica, também ficaram evidenciados os danos teciduais no inseto causados pelo fungo. Quatro espécies do gênero *Trichoderma* (*T. longibrachiatum*, *T. citrinoviride*, *T. atroviride* e *T. harzianum*) foram testadas contra os coleópteros

Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera: Curculionidae: Bruchinae) e *Xylotrechus arvicola* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae), todos os isolados foram promissores no controle de ambos os insetos, particularmente as espécies *T. harzianum* contra *A. obtectus* e *T. citrinoviride* contra *X. arvicola* (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2017).

Trichoderma asperellum apresentou ação larvicida contra o mosquito do gênero *Anopheles*, vetor da malária. Foram analisados tanto o extrato metanólico bruto de *T. asperellum* quanto as diferentes frações do mesmo e, neste último, a oitava fração (MF8) foi a que apresentou a maior atividade larvicida. Durante a avaliação microscópica, observou-se a presença de esporos e o crescimento das hifas fúngicas tanto no espiráculo quanto no interior da larva. Ademais, lacerações e degeneração interna do tecido das larvas também foram observadas (PODDER; GHOSH, 2019).

3 MÉTODO

3.1 ISOLADOS FÚNGICOS

Foram avaliados quinze isolados (sete espécies) de *Trichoderma* obtidos de sistemas agroflorestais, provenientes de amostras de solo coletados na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em Recife (PE), do Sítio Nova Canaã, em Olinda (PE) e do Sítio São João, em Abreu e Lima (PE), conforme exposto na tabela 1.

Tabela 1. Espécies de *Trichoderma* provenientes de solos de sistemas agroflorestais, número de registro da micoteca URM e local de coleta do solo

Espécie	Nº do acesso do na Micoteca URM	Local
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (Rifai)	URM7903	Sítio São João
<i>Trichoderma asperellum</i> (Samuels, Lieckf. & Nirenberg)	URM 7897	Sítio São João
<i>Trichoderma afroharzianum</i> (P. Chaverri, F.B. Rocha, Degenkolb & Druzhin)	URM7896	Sítio São João
<i>Trichoderma atroviride</i> (P. Karst.)	URM 8251	Sítio São João
<i>Trichoderma atroviride</i> (P. Karst.)	URM 8252	Sítio São João
<i>Trichoderma atroviride</i> (P. Karst.)	URM 8253	Sítio São João

<i>Trichoderma afroharzianum</i> (P. Chaverri, F.B. Rocha, Degenkolb & Druzhin)	URM 7895	Sítio São João
<i>Trichoderma atroviride</i> (P. Karst.)	URM 8254	Sítio São João
<i>Trichoderma atroviride</i> (P. Karst.)	URM 8255	Sítio São João
<i>Trichoderma atroviride</i> (P. Karst.)	URM 8256	Sítio São João
<i>Trichoderma brevicompactum</i> (G.F. Kraus, C.P. Kubicek & W. Gams)	URM 7900	Sítio Nova Canaã
<i>Trichoderma breve</i> (K. Chen & W.Y. Zhuang)	URM 7899	Sítio São João
<i>Trichoderma asperelloides</i> (Samuels)	URM7898	UFPE
<i>Trichoderma brevicompactum</i> (G.F. Kraus, C.P. Kubicek & W. Gams)	URM 7901	Sítio Nova Canaã
<i>Trichoderma asperellum</i> (Samuels, Lieckf. & Nirenberg)	URM7902	Sítio São João

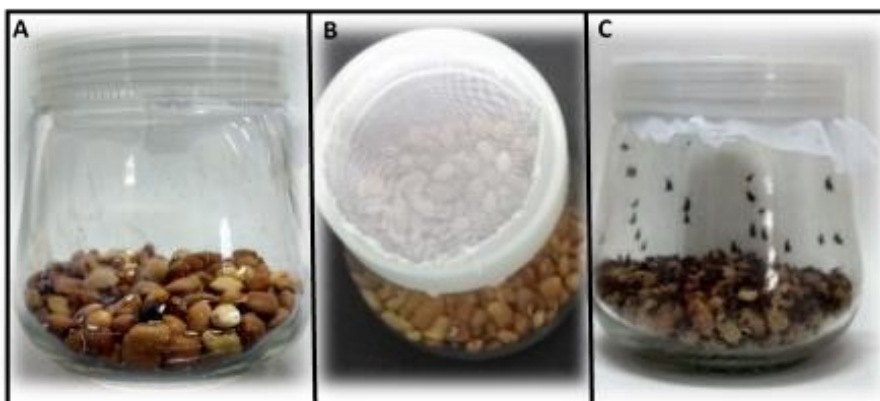
Fonte: A autora.

3.2 PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. CONTRA *Callosobruchus maculatus*, *Aphis craccivora* e *Nasutitermes corniger*.

3.2.1 Coleta e manutenção dos insetos

Os insetos adultos de *Callosobruchus maculatus* foram obtidos de uma criação pré-existente no Laboratório de Controle Biológico do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA). Os insetos adultos foram mantidos em potes de vidro, contendo sementes de feijão-caupi saudáveis, fechados com tampa rosqueada e protegidos com tecido fino do tipo “Voil” para permitir a aeração. Os insetos foram mantidos durante quatro dias nos recipientes para efetuarem a postura dos ovos, em seguida, estes, foram retirados e os potes armazenados até a emergência dos adultos (figura 4). Tal procedimento foi realizado por sucessivas gerações, a fim de assegurar a quantidade de insetos necessária para a execução dos testes de patogenicidade.

Figura 4- Manutenção da criação de *C. maculatus*. A) Sementes sadias de Feijão-caupi antes da incorporação dos insetos. B) Transferência adultos para efetuarem a postura dos ovos. C) Emergência de insetos adultos.



Fonte: A autora.

Os pulgões, *A. craccivora*, foram coletados a partir de infestações naturais em feijão-caupi no campo. Para criação em massa desse afídeo, adultos e ninfas jovens foram transferidos para plantas saudáveis de feijão-caupi existentes na casa de vegetação do IPA (Figura 5). Apenas indivíduos adultos foram utilizados nos testes de patogenicidade.

Figura 5- Criação de *A. craccivora* em casa de vegetação. A) Plantas saudáveis de Feijão-caupi mantidas em casa de vegetação. B) Ninfas de *Aphis craccivora* infestando vagens de feijão-caupi.



Fonte: A autora.

Soldados e operários de *N. corniger* foram coletados em árvores do campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em Recife-PE. Pinças, pincéis e placas de Petri esterilizadas foram utilizadas nas coletas, sendo estas realizadas no dia de cada bioensaio. Os cupins foram levados para o laboratório de Fungos Fitopatogênicos da UFPE e acondicionados no escuro até o momento da realização dos bioensaios.

3.2.2 Teste de patogenicidade

Os quinze isolados foram distribuídos em dois bioensaios: o primeiro com nove tratamentos (8 fungos + controle) e o segundo com oito tratamentos (7 fungos + controle). O

delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo (dias de sobrevivência), sendo os isolados dispostos nas parcelas e os dias de avaliação nas subparcelas, com três repetições. Em cada uma das repetições foram utilizados 20 insetos, totalizando 60 insetos/tratamento. Cada bioensaio foi repetido três vezes.

Os fungos foram mantidos em tubos de ensaio contendo meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e após oito dias de crescimento foi obtida uma suspensão de 1×10^7 conídios/mL em água destilada esterilizada + Tween 80% (0,01%). O controle foi composto por água destilada esterilizada + tween 80% (0,01%). A inoculação foi efetuada por aspersão de conídios dos isolados fúngicos com o auxílio de um pulverizador manual, utilizando 1 mL da suspensão para *C. maculatus* e *N. corniger* e 700µl para o *A. craccivora*. A pulverização sobre os diferentes grupos de insetos ocorreu, separadamente, em placas de Petri de vidro e em momentos distintos (JESSICA et al., 2019).

Após a pulverização, os insetos foram transferidos para outras placas de Petri contendo papel filtro umidificado com 1 ml de água destilada e uma fonte alimentar. Para os cupins foram adicionados fragmentos de papel madeira para serem usados por estes insetos como fonte de alimento e refúgio. Para os pulgões foram fornecidos como fonte nutricional folhas de feijão-caupi recém colhidas e que eram trocadas diariamente e para o caruncho, sementes de feijão-caupi. Em seguida, as placas de Petri foram seladas com filme plástico para evitar a fuga dos insetos.

As análises das mortalidades do pulgão e do cupim foram realizadas diariamente durante cinco dias após a exposição dos insetos à suspensão de conídios. Entretanto, para o caruncho a mortalidade dos insetos foi registrada nos dias 1,3,5,7,9,11,13,15 após a aplicação dos tratamentos. Os insetos mortos foram submetidos a um processo de desinfestação em álcool 70%, hipoclorito de sódio 2% e água destilada esterilizada e, na sequência, foram transferidos para placas de Petri contendo papel filtro previamente umidificado com água destilada esterilizada. As placas foram incubadas em BOD $28 \pm 2^\circ\text{C}$ para a confirmação da mortalidade pelo patógeno. As estruturas fúngicas dos isolados avaliados foram analisadas por meio de preparação microscópica de lâminas com o intuito de confirmar suas identidades.

A viabilidade dos conídios foi avaliada por meio do plaqueamento de 40µL das suspensões de conídios em placas de Petri contendo BDA, sendo estas incubadas em BOD ($26 \pm 1^\circ\text{C}$) por 14 horas. No primeiro bioensaio, o delineamento foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e no segundo com sete tratamentos, com três repetições. O percentual de germinação foi verificado contando-se 200 conídios (entre germinados e não germinados) por

placa 14 horas após a semeadura, utilizando a fórmula ($G=n \times 100/200$), onde G é o percentual de conídios germinados (ALVES, 1998).

3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos de mortalidade acumulada dos três insetos estudados foram submetidos a análise de covariância (ANCOVA). Foi realizada uma Análise de Desvio (ANODEV) do modelo, que é uma generalização da análise da variância para os Modelos Lineares Generalizados (GLM), com distribuição binomial dos erros e função de ligação logit. Quando a análise demonstrou efeito significativo ao tratamento, as médias foram comparadas usando a análise de contraste para verificar as distinções entre os isolados. Os gráficos foram construídos com intervalo de confiança 95%. A análise dos dados e a construção dos gráficos foram realizadas no software estatístico R- Studio (R Core Team, 2019).

4 CONTROLE BIOLÓGICO DE *Callosobruchus maculatus* e *Aphis craccivora* POR ESPÉCIES DE *Trichoderma*

Resultados

Viabilidade de conídios (Taxa de Germinação %)

Com exceção dos isolados de *Trichoderma brevicompactum* (URM 7900 e URM 7901) que apresentaram taxas de germinação inferiores a 50%, os demais isolados exibiram taxas de germinação entre 90% e 97%. A espécie supracitada também apresentou crescimento micelial lento e uma menor produção de conídios comparada aos demais isolados.

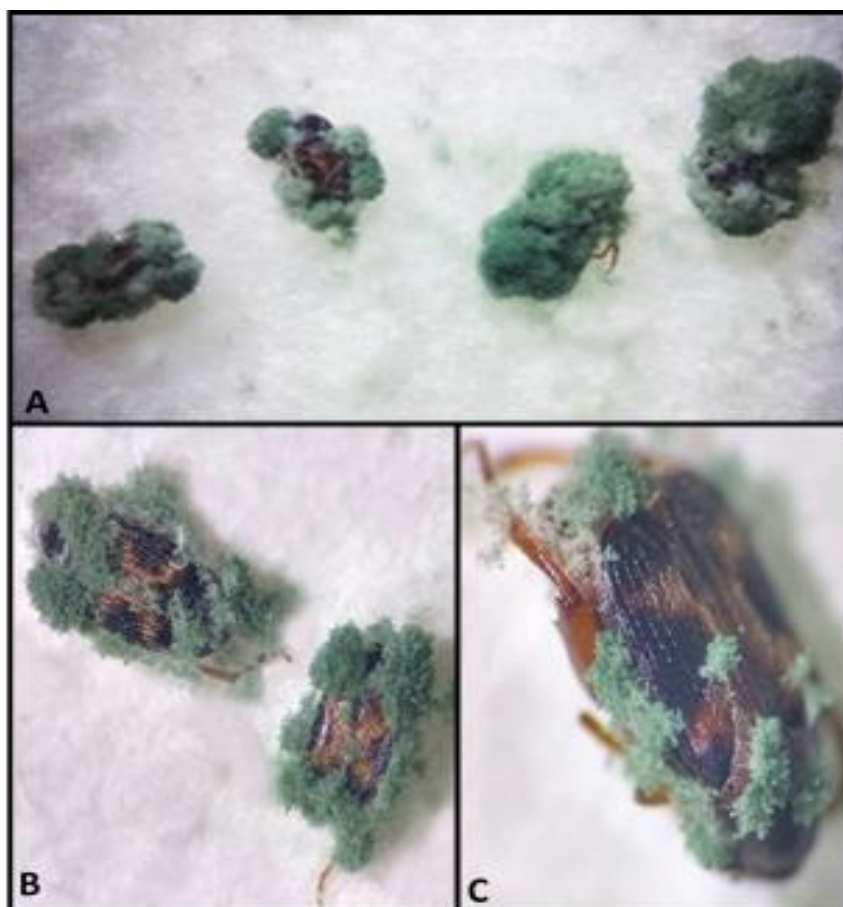
Patogenicidade de isolados de *Trichoderma* spp. contra *Callosobruchus maculatus* e *Aphis craccivora*

A maioria dos isolados de *Trichoderma* testados contra *C. maculatus*, no primeiro bioensaio, apresentaram picos de mortalidade diária confirmada no sétimo dia de avaliação, com destaque para isolados URM 7897 de *T. asperellum* (34,44%) e URM 8253 (34,44%) e URM 8252 de *T. atroviride* (23,89%) (Tabela 1). Os demais isolados exibiram percentuais diários de mortalidade inferiores a 10%.

Os isolados URM 8256 e URM 7900 de *T. atroviride* e URM 7901 de *T. brevicompactum*, testados no segundo bioensaio, não foram patogênicos ao caruncho, com 0,00% de mortalidade confirmada (Tabela 2). Para os demais isolados avaliados, o pico de

mortalidade diária ocorreu no quinto dia de avaliação, com destaque para URM 7902 de *T. asperellum* e URM 7898 de *T. asperelloides*. Apesar do último isolado ter apresentado menor percentual de mortalidade neste dia, este manteve-se com percentuais de mortalidade diária constantes até o nono dia. Em contrapartida, URM 7902 apresentou percentuais de mortalidade decrescentes nos demais dias de avaliação. O isolado URM 8255 de *T. atroviride* e URM 7899 de *T. breve* apresentaram percentuais de mortalidade diária confirmada inferiores a 20%. Na figura 1 pode-se observar o crescimento micelial de *T. asperelloides* (URM 7898) e *T. asperellum* (URM 7897) sobre os insetos mortos. No tratamento controle de ambos os bioensaios, não foi observado sinal de colonização fúngica sobre os cadáveres dos coleópteros.

Figura 1- Mortalidade confirmada de *Callosobruchus maculatus* por espécies de *Trichoderma* (15X). Crescimento micelial de *T. asperelloides* (A) e *T. asperellum* (B e C) sobre os insetos mortos.



Fonte: A autora.

Tabela 1. Mortalidade Diária Confirmada (porcentagem média $\pm$ desvio padrão DP) de *Callosobruchus maculatus* durante quinze dias de avaliação após a pulverização das suspensões de 1×10^7 conídios / mL⁻¹ dos isolados de *Trichoderma* spp.

Bioensaio 01								
Tratamentos	1º Dia	3º Dia	5º Dia	7º Dia	9º Dia	11º Dia	13º Dia	15º Dia
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T.longibrachiatum</i> (URM7903)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,67 $\pm$ 1,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. asperellum</i> (URM 7897)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	16,11 $\pm$ 9,50	34,44 $\pm$ 16,04	15,00 $\pm$ 4,58	0,00 $\pm$ 0,00	4,44 $\pm$ 2,52	5,00 $\pm$ 2,65
<i>T. afroharzianum</i> (URM7896)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,67 $\pm$ 4,00	5,56 $\pm$ 2,89	0,00 $\pm$ 0,00	1,67 $\pm$ 1,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8251)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,11 $\pm$ 0,58	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,33 $\pm$ 1,73	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8252)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	11,67 $\pm$ 6,56	23,89 $\pm$ 7,09	9,44 $\pm$ 1,53	0,00 $\pm$ 0,00	5,00 $\pm$ 2,65	4,44 $\pm$ 2,52
<i>T. atroviride</i> (URM 8253)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,11 $\pm$ 3,21	34,44 $\pm$ 1,53	2,22 $\pm$ 0,58	0,00 $\pm$ 0,00	0,56 $\pm$ 0,58	2,78 $\pm$ 1,53
<i>T. afroharzianum</i> (URM 7895)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	5,56 $\pm$ 3,51	6,67 $\pm$ 3,61	6,11 $\pm$ 3,21	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	4,44 $\pm$ 2,52
<i>T. atroviride</i> (URM 8254)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	4,44 $\pm$ 3,79	5,00 $\pm$ 3,61	3,89 $\pm$ 2,08	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,67 $\pm$ 1,00

Fonte: A autora.

Tabela 2. Mortalidade Diária Confirmada (porcentagem média $\pm$ desvio padrão DP) de *Callosobruchus maculatus* durante quinze dias de avaliação após a aplicação das suspensões de 1×10^7 conídios / mL⁻¹ dos isolados de *Trichoderma* spp.

Bioensaio 02								
Tratamentos	1º Dia	3º Dia	5º Dia	7º Dia	9º Dia	11º Dia	13º Dia	15º Dia
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8255)	0,00 $\pm$ 0,00	2,22 $\pm$ 2,31	1,67 $\pm$ 1,73	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	12,78 $\pm$ 0,58
<i>T. atroviride</i> (URM 8256)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T.brevicompactum</i> (URM 7900)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. breve</i> (URM 7899)	0,00 $\pm$ 0,00	1,67 $\pm$ 1,73	0,00 $\pm$ 0,00	5,00 $\pm$ 2,65	1,11 $\pm$ 0,58	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. asperelloides</i> (URM7898)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	28,06 $\pm$ 0,29	25,00 $\pm$ 3,61	21,67 $\pm$ 12,12	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T.brevicompactum</i> (URM 7901)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. asperellum</i> (URM7902)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	35,28 $\pm$ 2,02	11,67 $\pm$ 1,00	9,44 $\pm$ 5,13	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00

Fonte: A autora.

Os percentuais de mortalidade acumulada confirmada de *C. maculatus* causada pelos isolados URM 7903 de *T. longibrachiatum* e URM 8251 de *T. atroviride* não diferiram estatisticamente do controle durante todos os dias de avaliação no primeiro bioensaio (Figura 2A). O mesmo foi observado para URM 7896 e URM 7895 de *T. afroharzianum* e URM 8254 de *T. atroviride*, no entanto, a partir do quinto dia tais isolados diferiram do controle, mas não diferiram entre si, e os percentuais de mortalidade não ultrapassaram 25%. Em contrapartida, os isolados URM 8252 e URM 8253 de *T. atroviride* e URM 7897 de *T. asperellum* diferiram desde o princípio dos isolados supracitados, sem, no entanto, diferirem entre si até o quinto dia quando o isolado URM 7897 se destacou e causou a morte de mais de 80% dos insetos até o décimo quinto dia. Os outros dois isolados (URM 8252 e URM 8253) permaneceram sem diferir entre si e alcançaram percentuais superiores a 50% até o último dia de avaliação.

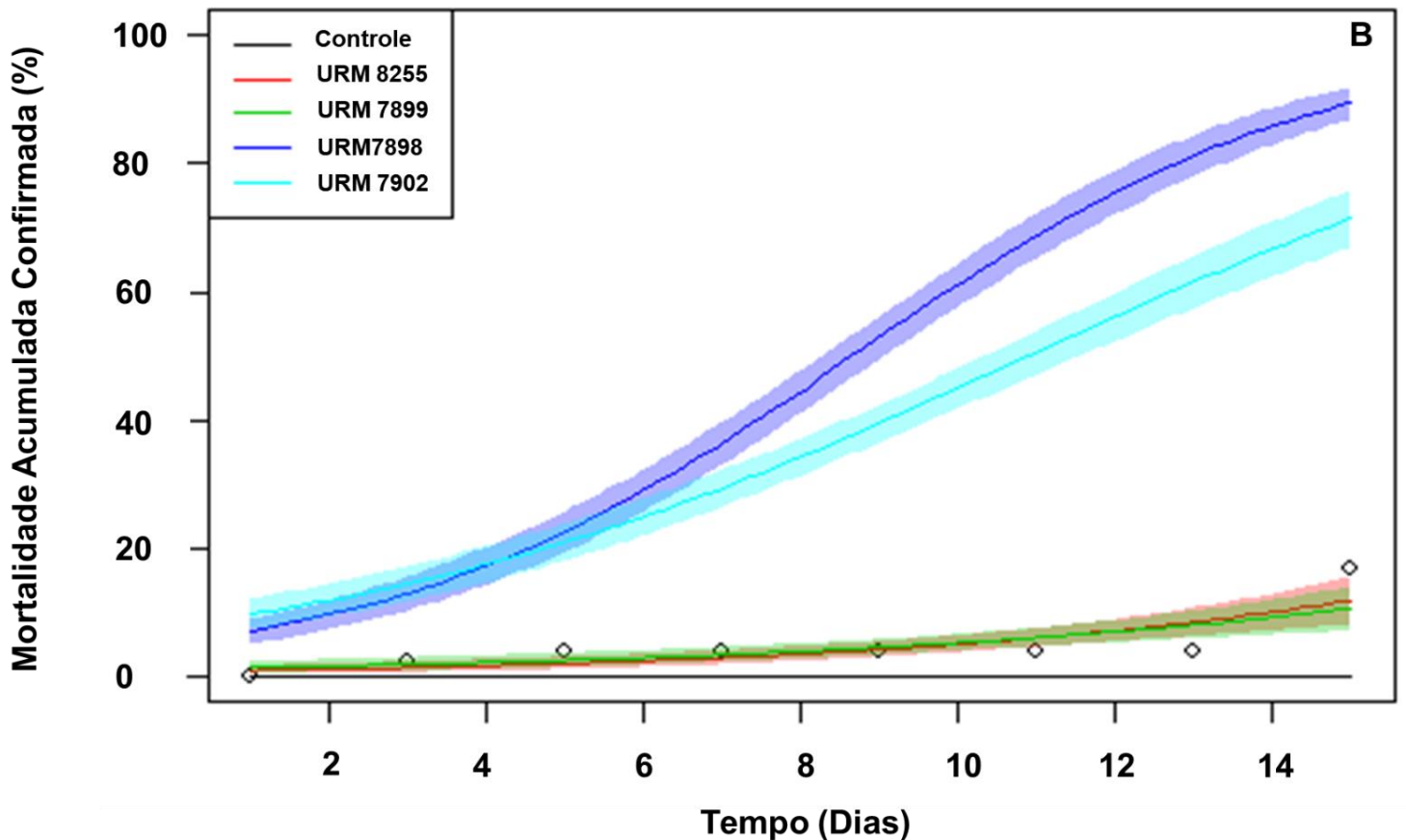
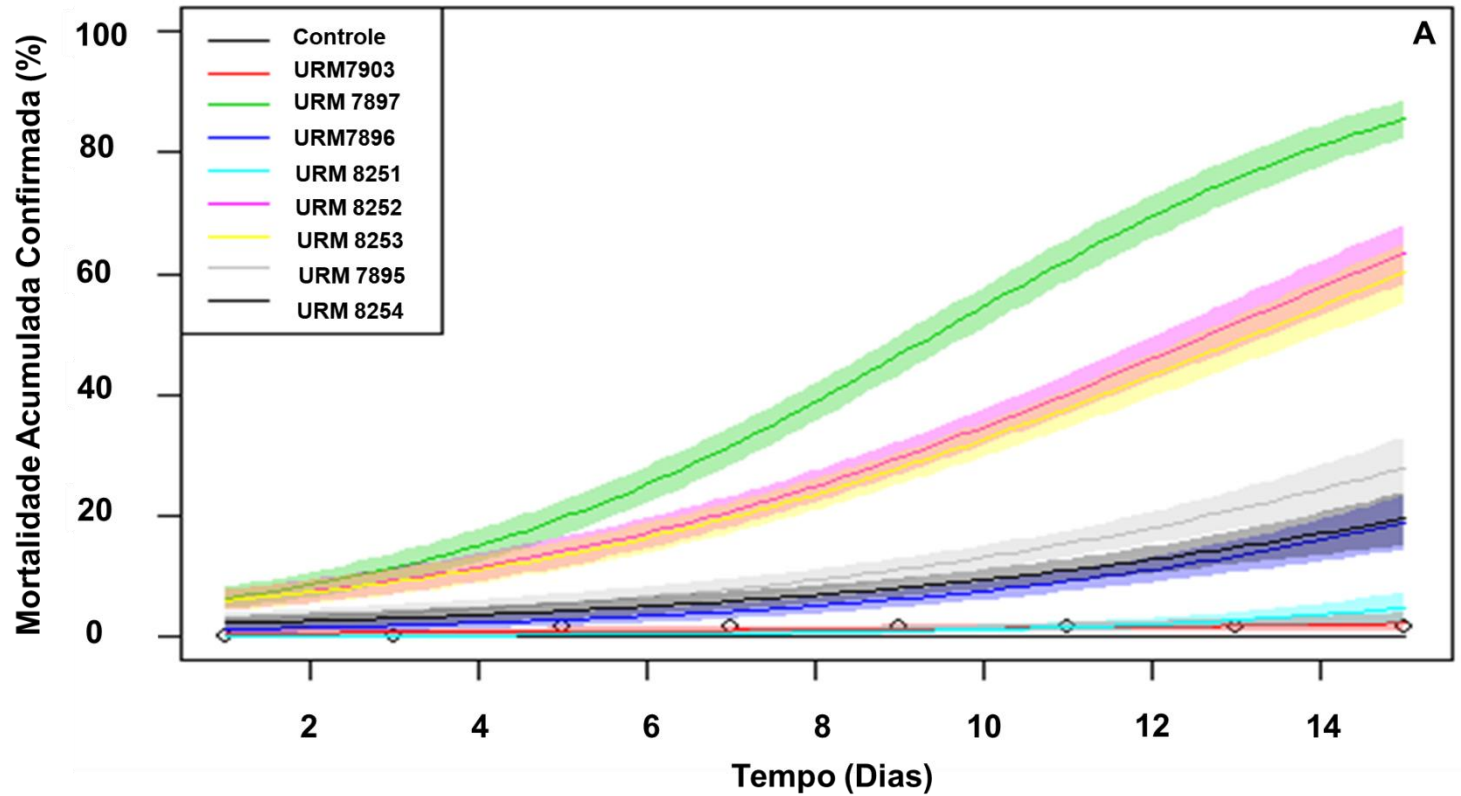
O segundo bioensaio (Figura 2B) ficou caracterizado pelo reduzido ou pela ausência de patogenicidade dos isolados contra o caruncho, com exceção dos isolados URM 7898 de *T. asperelloides* e URM 7902 de *T. asperellum* que até o sexto dia não diferiram entre si e exibiram a capacidade de causar a morte de 80% e 60%, respectivamente, dos insetos até o décimo quinto dia. Os outros dois isolados (URM 8255 de *T. atroviride* e URM 7899 de *T. breve*) não diferiram entre si e apresentaram percentuais de mortalidade inferiores a 20%.

Visto que os maiores percentuais de mortalidade foram obtidos utilizando os isolados URM 7897 de *T. asperellum* e URM 7898 *T. asperelloides* contra *C. maculatus*, estas espécies foram selecionadas para testes futuros contra outros estágios de vida deste inseto.

Os isolados de *Trichoderma* também foram testados contra *A. craccivora*, sendo observada uma alta taxa de mortalidade diária confirmada deste inseto causada por URM 7897 de *T. asperellum* (66,67%), URM 8251 (64,44%) e URM 8253 (57,78%) de *T. atroviride* no segundo dia de avaliação. Os demais isolados exibiram percentuais diários de mortalidade abaixo de 40% (Tabela 3).

Os isolados de *Trichoderma* não diferiram entre si quanto aos percentuais de mortalidade acumulada confirmada de *A. craccivora* no primeiro dia de avaliação, exceto para URM 7903 de *T. longibrachiatum* que causou baixos percentuais de mortalidade até o quinto dia (Figura 3). Entretanto, a partir do segundo dia os isolados URM 7897 de *T. asperellum* e URM 8251 de *T. atroviride* destacam-se com percentuais de 88,34% e 82,78% no quinto dia, respectivamente.

Figura 2- Percentual de mortalidade acumulada confirmada de *Callosobruchus maculatus* durante quinze dias após exposição aos isolados de *Trichoderma* na concentração 1×10^7 conídios / mL⁻¹. **A)** Bioensaio 1: — *T. longibrachiatum*, — *T. asperellum*, — *T. afroharzianum*, — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. afroharzianum* — *T. atroviride*. **B)** Bioensaio 2: — *T. atroviride* — *T. breve* — *T. asperellum* — *T. asperelloides*.



ANODEV ($P < 0.001$). As bandas coloridas indicam as interações entre os isolados e, quando sobrepostas, atestam a similaridade entre eles. **Fonte:** A autora.

Tabela 3. Mortalidade diária confirmada (Porcentagem média $\pm$ Desvio padrão DP) de *Aphis craccivora* durante cinco dias de avaliação após a pulverização das suspensões de 1×10^7 conídios / mL⁻¹ dos isolados de *Trichoderma* spp.

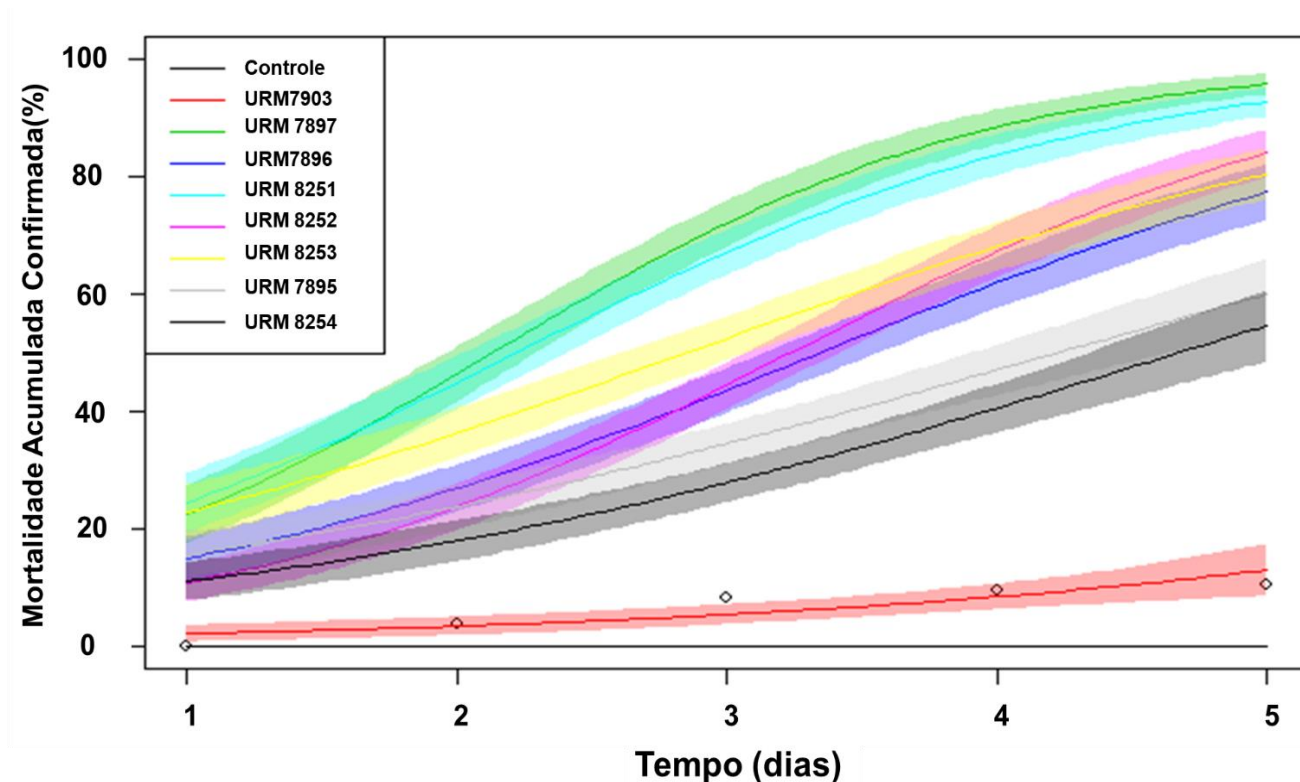
Bioensaio 1					
Tratamentos	1º Dia	2º Dia	3º Dia	4º Dia	5º Dia
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. longibrachiatum</i> (URM7903)	0,00 $\pm$ 0,00	3,89 $\pm$ 2,08	4,44 $\pm$ 2,52	1,11 $\pm$ 1,15	1,11 $\pm$ 0,58
<i>T. asperellum</i> (URM 7897)	2,22 $\pm$ 2,31	66,67 $\pm$ 10,00	11,67 $\pm$ 4,00	5,00 $\pm$ 2,65	2,78 $\pm$ 2,89
<i>T. afroharzianum</i> (URM7896)	1,11 $\pm$ 1,15	35,28 $\pm$ 15,00	20,00 $\pm$ 10,54	8,89 $\pm$ 6,11	1,11 $\pm$ 1,15
<i>T. atroviride</i> (URM 8251)	2,78 $\pm$ 2,89	64,44 $\pm$ 8,62	10,56 $\pm$ 6,03	5,00 $\pm$ 2,65	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8252)	0,00 $\pm$ 0,00	28,33 $\pm$ 10,54	28,33 $\pm$ 1,73	16,11 $\pm$ 9,50	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8253)	0,56 $\pm$ 0,58	57,78 $\pm$ 8,50	5,56 $\pm$ 3,06	5,00 $\pm$ 3,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. afroharzianum</i> (URM 7895)	0,00 $\pm$ 0,00	34,44 $\pm$ 6,81	14,44 $\pm$ 8,50	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8254)	1,67 $\pm$ 1,73	20,56 $\pm$ 6,03	16,67 $\pm$ 6,00	4,44 $\pm$ 3,06	2,78 $\pm$ 2,89

Fonte: A autora.

O isolado URM 8253 de *T. atroviride* diferiu de todos os isolados no segundo dia, entretanto nos demais dias (3º, 4º e 5º) demonstrou um decréscimo no percentual diário de mortalidade e, dessa forma, ao final da avaliação seu percentual de mortalidade acumulada não diferiu dos isolados URM 7896 de *T. afroharzianum* e URM 8252 de *T. atroviride*, que mantiveram seus percentuais diários de mortalidade constantes ao longo dos dias. No quinto dia, estes dois isolados apresentaram taxas de mortalidade acumulada confirmada entre 70% e 80%. O isolado URM 8254 de *T. atroviride* e URM 7895 de *T. afroharzianum* diferiram dos demais a partir do terceiro dia, porém não diferiram entre si, exibindo percentuais de mortalidade acima de 40%. No tratamento controle não foi observado sinal de colonização fúngica sobre insetos mortos.

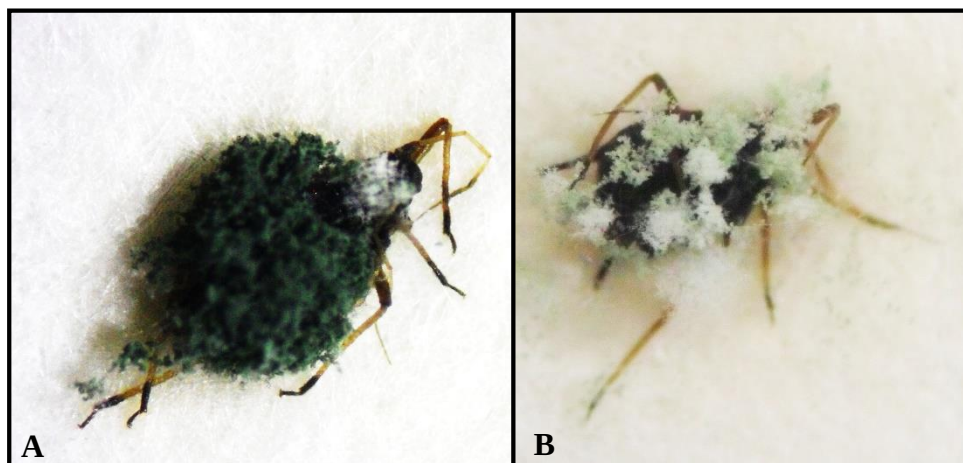
O crescimento micelial de *T. asperellum* (URM 7897) e *T. atroviride* (URM 8251) sobre os afídeos mortos pode ser observado na figura 4. Tais isolados apresentaram os maiores percentuais de mortalidade contra *A. craccivora* em testes *in vitro*, desta forma estas espécies foram selecionadas para testes posteriores em casa de vegetação contra este afídeo.

Figura 3- Percentual de mortalidade acumulada confirmada de *Aphis craccivora* durante cinco dias após exposição aos isolados de *Trichoderma* na concentração 1×10^7 conídios / mL⁻¹. — *T. longibrachiatum*, — *T. asperellum*, — *T. afroharzianum*, — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. afroharzianum* — *T. atroviride*.



ANODEV ($P < 0.001$). As bandas coloridas indicam as interações entre os isolados e, quando sobrepostas, atestam a similaridade entre eles. **Fonte:** A autora.

Figura 4- Mortalidade confirmada de *Aphis craccivora* por espécies de *Trichoderma* (15X). Crescimento micelial de *T. asperellum* (A) e *T. atroviride* (B) sobre os insetos mortos.



Fonte: A autora.

Discussão

A ocorrência de infecções naturais ocasionadas por *Trichoderma* contra *A. craccivora* em plantações de feijão-caupi no Egito foi previamente relatada por Ibrahim et al. (2011). Outros estudos disponíveis na literatura atestam sobre o potencial deste gênero no controle de afídeos como: o pulgão-verde *Schizaphis graminum* Rondani (Hemiptera: Aphididae) (GANASSI et al., 2001), pulgão do algodoeiro *Aphis Gossypii* Glover (Hemiptera: aphididae) (MONA et al., 2016) e pulgão-roxo-da-roseira *Macrosiphum rosae* Linnaeus (Hemiptera: Aphididae) (BEGUM et al., 2018). Entretanto, nenhum estudo foi encontrado sobre a ação destes fungos contra *C. maculatus* sendo assim, o presente trabalho apresenta-se como primeiro relato sobre a patogenicidade de *Trichoderma* contra este inseto.

Os resultados apresentados indicam que três isolados testados de *Trichoderma* não foram patogênicos aos adultos de *C. maculatus*. A patogenicidade fúngica é um processo bastante complexo e que depende tanto das particularidades do patógeno quanto do hospedeiro. Assim, a não patogenicidade demonstrada pelos isolados analisados deve-se, provavelmente, a especificidade exibida por algumas espécies de patógenos. Tal característica pode ser considerada como uma das vantagens do biocontrole em relação ao uso de químicos, uma vez que a utilização desses fungos em campo minimiza a probabilidade de organismos não-alvos

(parasitoides, predadores, polinizadores e etc) serem afetados, ocasionando novas alterações e desequilíbrios no ecossistema (ALVES, 1998).

Dentre os quinze isolados analisados cinco apresentaram percentuais satisfatórios de mortalidade de *C. maculatus*. Em contrapartida, apenas um (URM 7903) dos oito isolados testados contra o *A. craccivora* não apresentou bons valores de mortalidade.

A elevada esclerotinização do exoesqueleto destes insetos contribuiu para baixa patogenicidade de alguns fungos testados contra o caruncho, pois dificulta o processo de infecção por estes isolados. Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo, Todorova et al. (2000) relatou uma maior susceptibilidade do afídeo-verde [*Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae),] em relação aos coleópteros [*Leptinotarsa decemlineata* say (Coleoptera: Chrysomelidae)] e *Coleomegilla maculata lengi* Timb (Coleoptera: Coccinellidae), este último que é predador natural dos dois primeiros insetos-pragas, frente a isolados de *Beauveria bassiana*.

Gindin et al. (2009) demonstraram que as larvas de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) foram mais suscetíveis aos isolados de *Metarhizium anisopliae* e *B. bassiana* que os adultos deste mesmo inseto. Segundo os autores, com as mudanças ocorridas durante as fases do ciclo de vida e, por consequência, o aumento da esclerotinização da cutícula do inseto, a patogenicidade dos isolados decrescia, ratificando que organismos que possuem a cutícula mais esclerotinizada apresentam uma barreira física mais difícil de ser ultrapassada pelo fungo, o que dificulta o processo de infecção e desenvolvimento da doença.

Apesar de não terem avaliado a ação dos fungos sobre os insetos adultos, diferindo da metodologia aqui aplicada, Rodríguez-González et al. (2017) demonstram a ação ovicida das espécies *T. longibrachiatum*, *T. hazianum*, *T. atroviride* e *T. citrinoviride* e o seu potencial no bicontrol de *Xylotrechus arvicola* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) e *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). Os autores relataram que *T. harzianum* foi a espécie mais patogênica, demonstrando a capacidade de inibir em até 96,7% e 85% o desenvolvimento dos ovos de *X. arvicola* e de *A. obtectus*, respectivamente. Outra espécie que demonstrou bons resultados foi *T. atroviride* eliminando 74,2% dos ovos de *A. obtectus* e 81,7% *X. arvicola*. No mais,

a espécie *T. longibrachiatum* (URM 7903) que exibiu baixos percentuais de mortalidade contra os adultos de *C. maculatus* e *A. craccivora* no atual trabalho, também demonstrou desempenho inferior contra *X. arvicola* e *A. obtectus* (50%) em comparação com as demais espécies testadas pelos autores.

Por outro lado, segundo Ghosh e Pal. (2015), *T. longibrachiatum* demonstrou-se eficaz no controle de *Leucinodes orbonalis* Guen (Lepidoptera: Pyralidae) *in vitro* e em campo. De acordo com os autores, a aplicação do biopesticida nas plantações de beringela garantiu uma produtividade 56,02% maior da cultura quando comparada com a área controle. A área tratada com o fungo demonstrou resultados similares a da região onde se utilizou o pesticida malatião, mostrando que o uso deste agroquímico pode ser substituído pela formulação produzida pelos autores para controlar a população deste inseto-praga nesta cultura. Em um estudo posterior, Anwar et al. (2016) demonstraram a ação desta mesma espécie contra a ninfa e o adulto de *Bemisia Tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). Os autores relataram que o aumento na mortalidade, em especial das ninfas, foi diretamente proporcional ao aumento do tempo após a exposição ao fungo e concentração de esporos aplicada.

O desempenho de *T. asperelloides* como promotor de crescimento foi relatada por Chagas et al. (2016) utilizando feijão-caupi. Segundo os autores um dos isolados testados apresentou elevada capacidade de solubilizar o fosfato e produzir ácido indolacético (AIA), uma auxina responsável pelo crescimento vegetal. Além disso, em análises realizadas em casa de vegetação, as sementes tratadas com esta espécie apresentaram plantas com maiores percentuais de altura, matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz e matéria seca total após 35 dias do plantio e maior quantidade de nós após 45 dias. Posteriormente, resultados similares foram observados por Mendes et al. (2020) demonstraram, o potencial desta espécie na solubilização do fosfato no e crescimento vegetal. Em adição, os pesquisadores demonstraram que ação conjunta entre um dos isolados de *T. asperelloides* e *Bradyrhizobium* sp. (bactérias fixadoras de nitrogênio) melhorou significativamente o crescimento do feijão-caupi, principalmente em termos de taxa de crescimento relativo, altura e peso seco de brotações, raízes e nódulos. Isolados desta espécie fúngica também demonstraram elevado potencial antagonista contra isolados de *Sclerotinia sclerotiorum* mostrando capacidade de controlar o mofo branco na cultura da soja em condições de campo (SUMIDA et al., 2018). No entanto, até o momento, nenhum estudo foi observado sobre a atuação desta espécie no controle de insetos.

Em contrapartida, o potencial larvicida *in vitro* de *T. asperellum* foi previamente relatado por Podder e Ghosh (2019) contra o mosquito vetor da malária, *Anopheles*. Neste

estudo, tanto a ação do extrato metanólico bruto quanto fracionado, do melhor isolado previamente selecionado, foram avaliados contra a larva do inseto. Segundo os autores, a análise cromatográfica da fração MF8, do extrato fracionado, demonstrou a presença de sete compostos com notória atividade inseticida, segundo dados de pesquisas presentes na literatura. Além disso, os pesquisadores observaram a redução da atividade da enzima fenoloxidase na cutícula e na hemolinfa das larvas, demonstrando a vulnerabilidade destes indivíduos à infecções por microorganismos. Bem como *T. asperelloides*, a atividade antifúngica de *T. asperellum* foi anteriormente relatada por Ajayi e Oyedele (2016) contra *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causador da antracnose no feijão-caupi. Segundo os autores, *T. asperellum* foi capaz de inibir em até 94,06% o crescimento do patógeno *in vitro* e em campo reduziu tanto incidência quanto a severidade da doença.

Dada a elevada aplicabilidade do gênero *Trichoderma* na agricultura, o biocontrole de insetos-praga apresenta-se como mais uma das inúmeras funções exercidas por este fungo no agroecossistema. Grande parte dos isolados utilizados no atual estudo exibiram potencial para serem testados em campo contra *A. cracciovora*, visto que elevados percentuais de mortalidade foram observados. Entretanto, os isolados URM 7897 (*T. asperellum*) e URM 8251 (*T. atroviride*) destacaram-se como os mais promissores para testes posteriores. Assim como para o pulgão, o isolado URM 7897 (*T. asperellum*) se mostrou eficiente contra *C. maculatus*. Além disso, também tiveram notoriedade os isolados URM 8252 e URM 8253 de *T. atroviride*, URM 7898 de *T. asperelloides* e URM 7902 de *T. asperellum*. Estudos futuros tornam-se necessários visando a compreensão dos mecanismos de ação destes fungos contra os insetos, bem como a segurança do uso deste gênero no controle destes organismos.

5 ENTOMOPATOGENICIDADE DE *Trichoderma* spp. CONTRA *Nasutitermes corniger* MOTSCHULSKY (BLATTODEA: TERMITIDAE)

Resultados

Patogenicidade de isolados de *Trichoderma* spp. contra *Nasutitermes corniger*

Os conídios das espécies utilizadas nos testes de patogenicidade contra *N. corniger* permaneceram viáveis, exibindo taxas de germinação superiores a 90%, com exceção dos isolados URM 7900 e URM 7901 de *T. brevicompactum* que apresentaram percentuais de germinação abaixo de 50%.

Para os testes de patogenicidade, no primeiro bioensaio foi observado que não houve variação nos picos de mortalidade diária confirmada de *N. corniger* causada pelos isolados de *Trichoderma*, com os maiores percentuais de mortalidade ocorrendo no quarto dia de avaliação (Tabela 1). Destacaram-se os isolados URM7895 e URM7896 de *T. afroharzianum* e URM 8253 de *T. atroviride* que causaram 64,44%, 43,33% e 41,11% de mortalidade confirmada dos cupins, respectivamente.

No segundo bioensaio, diferentes picos de mortalidade diária confirmada de *N. corniger* foram observados ao longo dos cinco dias de avaliação, variando de acordo com os isolados testados (Tabela 1). O isolado URM 7899 de *T. breve* causou 20% de mortalidade confirmada dos cupins no 2º dia de avaliação. Os isolados URM 8256 de *T. atroviride* e URM 7898 de *T. asperelloides* causaram 27,78% e 32,22% de mortalidade confirmada dos insetos no 3º dia, respectivamente. Os demais isolados exibiram picos de mortalidade no 4º dia, com destaque para URM 7902 de *T. asperellum* que causou 50% de mortalidade confirmada de *N. corniger*. Não foi observado desenvolvimento fúngico sobre os insetos mortos no tratamento controle (0,0% de mortalidade confirmada).

A mortalidade confirmada acumulada causada pelos isolados de *Trichoderma* contra *N. corniger*, durante os cinco dias de avaliação, está representada na figura 1.

No primeiro bioensaio (Figura 1A), a sobreposição de bandas indica que do primeiro ao terceiro dia não houve diferença significativa entre os isolados quanto aos percentuais de mortalidade acumulada confirmada. Entretanto, a partir do quarto dia os isolados URM 7903 de *T. longibrachiatum* e URM 8254 de *T. atroviride* diferiram dos demais, sem, no entanto, diferirem entre si. Ambos apresentaram percentuais de mortalidade inferiores a 60% no quinto dia de avaliação. Os demais isolados apresentaram percentuais superiores a 70%, não diferindo entre si, com URM 7895 de *Trichoderma afroharzianum* causando 90% de mortalidade dos cupins.

Tabela 1. Mortalidade diária Confirmada (porcentagem media $\pm$ Desvio Padrão DP) de *N. corniger* durante cinco dias de avaliação após aplicação da suspensão de 1×10^7 conidia/mL⁻¹ de *Trichoderma* spp.

Bioensaio 1					
Tratamentos	1º Dia	2º Dia	3º Dia	4º Dia	5º Dia
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T.longibrachiatum</i> (URM7903)	1,11 $\pm$ 0,58	5,56 $\pm$ 0,58	8,9 $\pm$ 6,81	33,33 $\pm$ 11,79	10,56 $\pm$ 3,06
<i>T. asperellum</i> (URM 7897)	5,00 $\pm$ 4,36	7,78 $\pm$ 5,69	15,0 $\pm$ 8,19	37,78 $\pm$ 10,97	2,22 $\pm$ 2,31
<i>T. afroharzianum</i> (URM7896)	0,00 $\pm$ 0,00	7,78 $\pm$ 0,58	14,4 $\pm$ 13,32	43,33 $\pm$ 10,82	11,11 $\pm$ 9,07
<i>T. atroviride</i> (URM 8251)	3,33 $\pm$ 1,73	10,56 $\pm$ 1,53	17,2 $\pm$ 3,06	26,67 $\pm$ 4,36	8,33 $\pm$ 5,57
<i>T. atroviride</i> (URM 8252)	0,00 $\pm$ 0,00	4,44 $\pm$ 1,53	19,4 $\pm$ 8,50	38,33 $\pm$ 21,63	6,67 $\pm$ 4,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8253)	1,67 $\pm$ 1,00	8,89 $\pm$ 1,53	11,1 $\pm$ 4,16	41,11 $\pm$ 10,69	6,67 $\pm$ 6,93
<i>T. afroharzianum</i> (URM 7895)	3,33 $\pm$ 0,00	1,67 $\pm$ 1,00	8,9 $\pm$ 3,21	64,44 $\pm$ 4,16	6,67 $\pm$ 4,58
<i>T. atroviride</i> (URM 8254)	2,22 $\pm$ 2,31	8,89 $\pm$ 5,13	10,6 $\pm$ 3,06	25,56 $\pm$ 7,02	3,89 $\pm$ 4,04
Bioensaio 2					
	1º Dia	2º Dia	3º Dia	4º Dia	5º Dia
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>T. atroviride</i> (URM 8255)	3,33 $\pm$ 1,00	16,11 $\pm$ 4,04	18,89 $\pm$ 2,52	22,78 $\pm$ 6,43	8,89 $\pm$ 6,81
<i>T. atroviride</i> (URM 8256)	7,78 $\pm$ 2,52	17,22 $\pm$ 1,53	27,78 $\pm$ 1,53	19,44 $\pm$ 8,14	6,11 $\pm$ 2,52
<i>T.brevicompactum</i> (URM 7900)	5,56 $\pm$ 2,08	4,44 $\pm$ 2,08	9,44 $\pm$ 3,51	15,56 $\pm$ 7,64	8,33 $\pm$ 1,00
<i>T. breve</i> (URM 7899)	15,56 $\pm$ 8,08	20,00 $\pm$ 3,61	15,56 $\pm$ 7,57	13,89 $\pm$ 5,69	2,78 $\pm$ 2,08
<i>T. asperelloides</i> (URM7898)	12,22 $\pm$ 6,35	15,00 $\pm$ 7,21	32,22 $\pm$ 10,12	17,22 $\pm$ 8,14	8,33 $\pm$ 6,24
<i>T.brevicompactum</i> (URM 7901)	14,44 $\pm$ 5,13	5,00 $\pm$ 2,00	11,11 $\pm$ 6,03	10,56 $\pm$ 2,52	3,33 $\pm$ 3,46

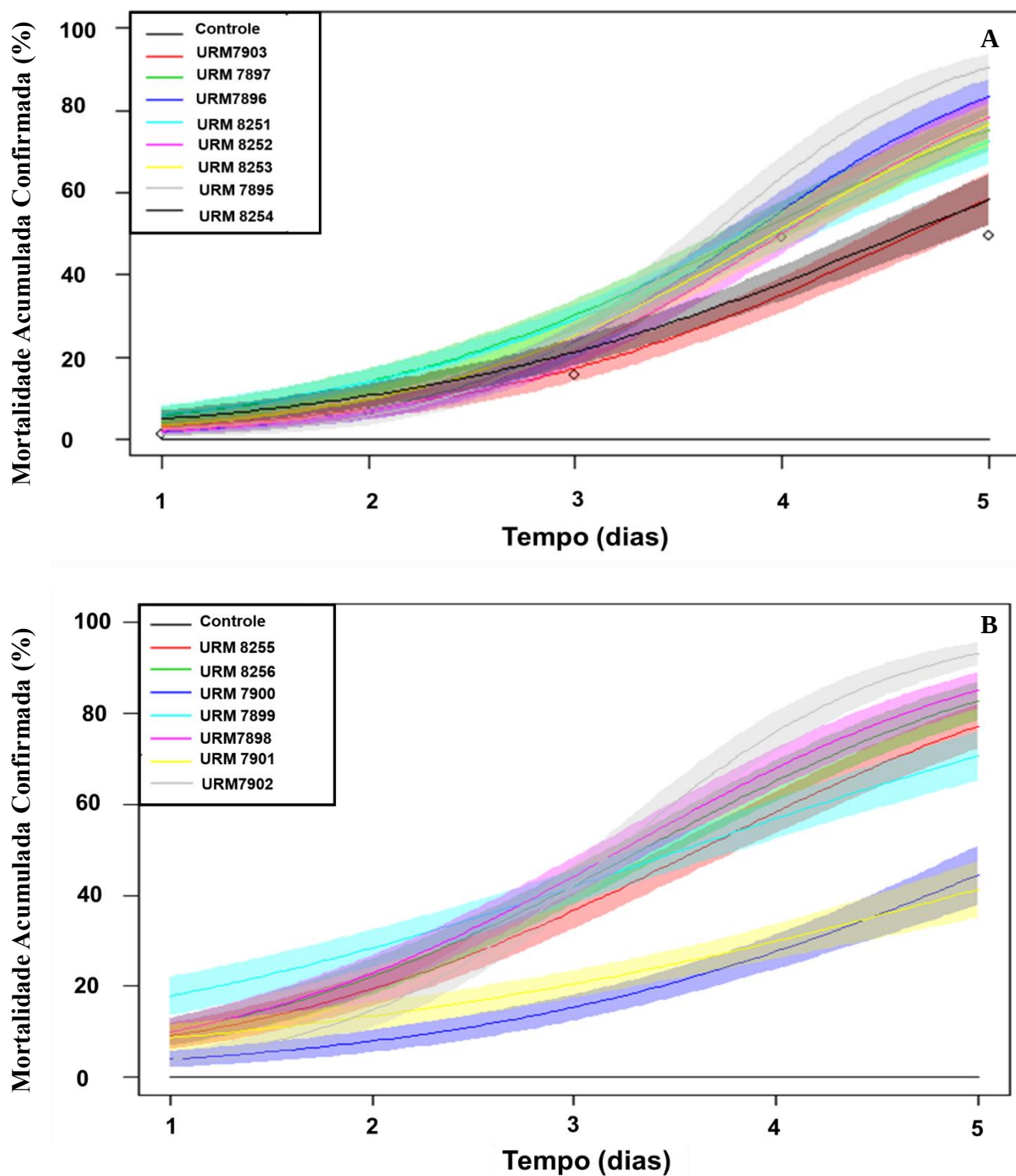
<i>T. asperellum</i> (URM 7902)	10,00 ± 5,20	9,44 ± 8,08	19,44 ± 6,43	50,00 ± 19,00	6,11 ± 4,04
------------------------------------	--------------	-------------	--------------	---------------	-------------

Fonte: A autora.

No segundo bioensaio (Figura 1B), URM 7899 de *T.breve* destacou-se inicialmente apresentando o maior percentual de mortalidade acumulada confirmada. No segundo dia os isolados apresentaram comportamento similar, não diferindo significativamente entre si. Em contrapartida, a partir do terceiro dia os isolados URM 7900 e URM 7901 de *T. brevicompactum* apresentaram elevada dissimilaridade em relação aos demais isolados, com percentuais de mortalidade menores que 50% até o quinto dia de avaliação. Os demais isolados permaneceram com níveis de patogenicidade semelhantes até o quarto dia quando o isolado URM 7902 de *T. asperellum* destacou-se, ocasionando percentual de mortalidade acima de 90% no último dia de avaliação. O crescimento micelial de *T. afroharzianum* e *T. asperellum* pode ser observado sobre os insetos na Figura 2.

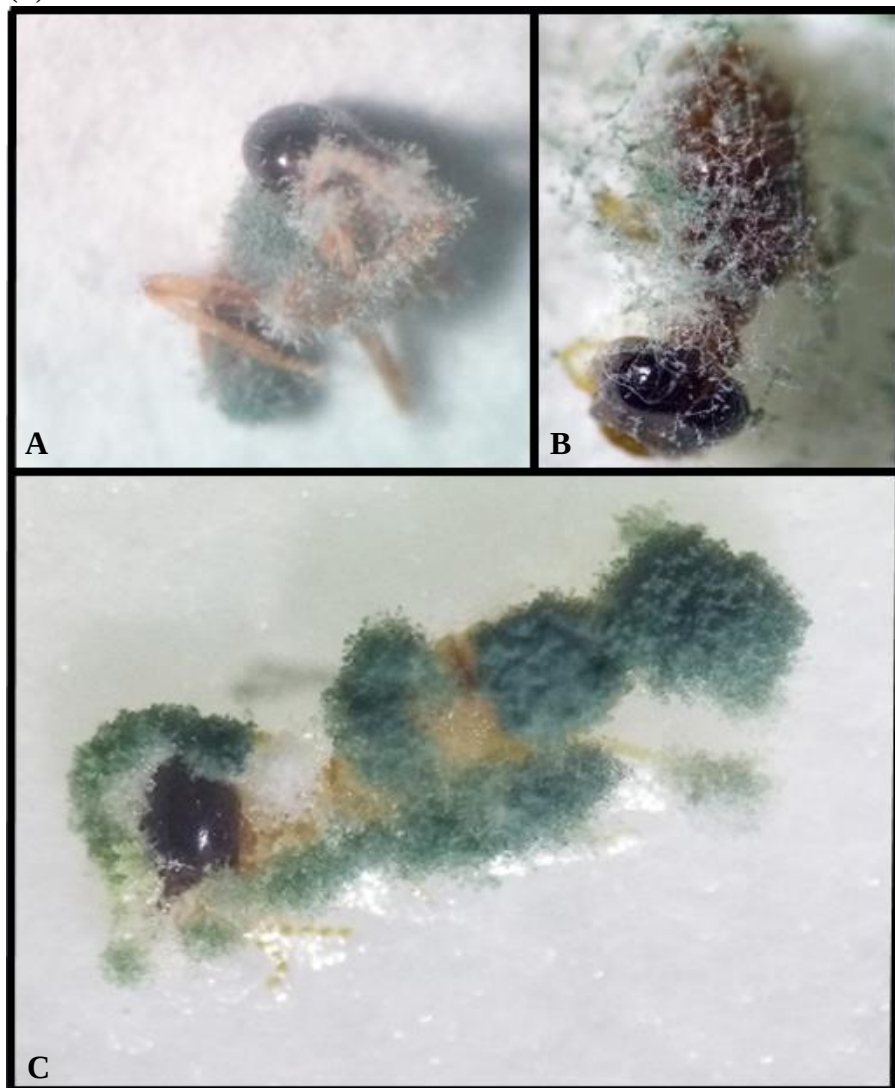
O isolado URM 7895 de *T. afroharzianum* e URM 7902 de *T. asperellum* foram selecionados como promissores no controle biológico de *N. corniger*.

Figura 1- Mortalidade Confirmada acumulada (%) of *N. corniger* durante cinco dias após aplicação de diferentes isolados de *Trichoderma* spp na concentração 1×10^7 conidia/mL⁻¹. **A)** Bioensaio 1: — *T. longibrachiatum* — *T. asperellum* — *T. afroharzianum* — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. afroharzianum* — *T. atroviride* **B)** Bioensaio 2: — *T. atroviride* — *T. atroviride* — *T. brevicompactum* — *T. breve* — *T. asperelloides* — *T. brevicompactum* — *T. asperellum*.



ANODEV $P < 0.001$. As bandas coloridas indicam as interações entre os isolados e, quando sobrepostas, atestam a similaridade entre eles. **Fonte:** A autora.

Figura 2- Mortalidade Confirmada de *Nasutitermes corniger* por espécies de *Trichoderma* (15X). Crescimento micelial de *T. afroharzianum* (A e B) e *T. asperellum* (C) sobre os insetos mortos.



Fonte: A autora.

Discussão

Fungos entomopatogênicos constituem um grande grupo de mais de 750 espécies que possuem a capacidade de parasitar insetos. Dentre os fungos destacam-se os gêneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Akanthomyces* (= *Lecanicillium*), *Cordyceps* (= *Isaria* = *Paecilomyces*) *Verticillium*, *Hirsutella*, *Nomuraea*, *Entomophthora*, *Aschersonia* (FARIA; WRIGHT, 2007) e, de forma menos expressiva, *Trichoderma* (GANASSI et al., 2001). Neste estudo a entomopatogenicidade de *Trichoderma* spp foi demonstrada por meio do seu efeito letal contra *N. corniger*. O potencial entomopatogênico de *T. harzianum*

contra organismos da ordem Blattodea foi relatado por Abdul-Wahid e Elbanna (2012). Estes autores observaram que o método de pulverização foi mais eficaz do que a introdução de *T. harzianum* na dieta de baratas (*Periplaneta americana*).

Os maiores percentuais de mortalidade de *N. corniger* foram causados por *T. afroharzianum* (URM7896 e URM 7895), *T. asperellum* (URM7902) e *T. asperelloides* (URM7898), respectivamente. Entretanto percentuais inferiores de mortalidade foram observados quando URM 7897 de *T. asperellum* foi testado contra este inseto. As diferenças de mortalidade confirmada demonstraram variações interespecíficas e intraespecíficas. Isolados de *T. harzianum* testados contra as larvas e as ninfas de *Schizaphis graminum* Rondani (Homoptera: Aphididae) causaram percentuais de mortalidade que variaram conforme isolado e fase do inseto estudada (GANASSI et al., 2001). Um dos isolados apresentou elevada virulência contra ambos os estágios de desenvolvimento, matando-os na primeira hora de avaliação, em contrapartida, o outro isolado exibiu patogenicidade contra as larvas a partir da terceira hora após a exposição ao fungo e não foi patogênico contra as ninfas. A variação na patogenicidade de isolados fúngicos está relacionada à sua virulência, à especificidade e à tolerância do hospedeiro, consequência da variabilidade genética de cada isolado (ALVES, 1998).

Os menores percentuais de mortalidade confirmada contra *N. corniger* foram causados por *T. longibrachiatum* (URM7903), *T. atroviride* (URM 8254) e *T. brevicompactum* (URM 7900 e URM 7901). Em relação aos dois últimos isolados tal resultado pode estar relacionado ao retardo na germinação dos conídios. Sabe-se que esta característica é importante no processo de infecção dos patógenos nos insetos, uma vez que inicia-se por meio da germinação dos esporos sobre a superfície destes artrópodes (ALVES et al., 1986). Testes realizados por Yeo et al. (2003) demonstraram que o isolado de *Verticillium lecanii* (= *Akanthomyces lecanii*) que apresentou maior virulência contra *Aphis fabae* Scopoli, (Homoptera, Aphididae) e *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) foi o mesmo que apresentou a maior taxa de germinação *in vitro*, demonstrando que a velocidade na germinação pode influenciar na ação do fungo contra o inseto.

Avaliando o potencial ovicida de algumas espécies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. citrinoviride* e *T. longibrachiatum*) contra *X. arvicola* e *A. obtectus*, Rodríguez-González et al. (2017) relataram que *T. longibrachiatum* causou os menores percentuais de mortalidade (aproximadamente de 50%) contra os ovos de ambos os coleópteros, com resultados similares aos encontrados no atual trabalho. Em

contrapartida, *T. harzianum* inibiu 96,7% e 85% dos ovos de *A. obtectus* e *X. arvicola*, respectivamente, enquanto *T. atroviride* ocasionou percentuais ovicidas de 74,2% contra o primeiro inseto e 81,7% contra o segundo. O mesmo foi observado no presente trabalho em que a maioria dos isolados de *T. atroviride* causou mortalidade com percentuais acima de 60% sendo estes valores inferiores ao demonstrado por outras espécies.

Contraopondo os resultados aqui encontrados, excelentes resultados foram obtidos em laboratório e em campo por Ghosh e Pal (2015) utilizando *T. longibrachiatum* no controle de *Leucinodes orbonalis* Guen (Lepidoptera: Pyralidae). Segundo os autores, o biocontrole *in vivo* deste inseto realizado por este entomopatógeno foi tão eficaz quanto o controle químico utilizando o malatião, que é comumente empregado na cultura da berinjela contra este lepidóptero.

Este estudo faz o primeiro relato sobre a entomopatogenicidade de *T. afroharzianum* e de *T. asperelloides*. No entanto, alguns estudos demonstram a capacidade de *T. afroharzianum* (anteriormente *T. harzianum*) de fazer associações simbióticas com as raízes das plantas, contribuindo com o aumento da produtividade em algumas culturas. Além disso, algumas pesquisas também mostraram o potencial desta espécie na promoção de crescimento e na indução de resistência vegetal (HARMAN; UPHOFF, 2019; HARMAN, 2019). Assim como a espécie anterior, *T. asperelloides* também foi previamente mencionada como promotora de crescimento de mudas da espécie florestal *Jacaranda micranta* (AMARAL et al., 2017). Ademais, Santos et al. (2019) demonstraram o potencial de *T. atroviride* e *T. asperellum* no controle de fitopatógenos *in vitro* e diminuição na incidência de diversas doenças que acometem culturas florestais (Eucalipto, Pínus, Seringueira entre outras) de grande importância econômica para o Brasil e outros países.

A entomopatogenicidade de *T. asperellum* foi previamente relatada contra o mosquito *Anopheles*, vetor da malária (PODDER; GHOSH, 2019). Estes autores realizaram vários testes, dentre eles a análise da atividade larvicida do extrato fúngico metanólico cru e fracionado contra as larvas de *Anopheles*. Ao determinarem a fração com a maior atividade larvicida, a avaliação de seus compostos por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) demonstrou a presença de 49 compostos dos quais sete possuem atividade inseticida potente. Os autores também relataram um decréscimo na atuação da fenoloxidase na hemolinfa e na cutícula do mosquito. A diminuição desta enzima no sistema imune dos insetos permite uma maior

susceptibilidade desses organismos às infecções fúngicas, virais e bacterianas (GONZÁLEZ-SANTOYO; CÓRDOBA-AGUILAR, 2012).

Os dados aqui apresentados juntamente com resultados relatados na literatura demonstram que o uso de *Trichoderma* spp em campo pode trazer contribuições tanto diretas (controle populacional dos insetos) quanto indiretas (associações benéficas com as raízes dos vegetais, promoção de crescimento, indução de crescimento e auxílio contra fitopatógenos) para o desenvolvimento das plantas. O potencial entomopatogênico demonstrado por *Trichoderma*, em especial as espécies *T. afroharzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. asperelloides* e *T. breve*, analisadas no atual trabalho, atestam a favor da possibilidade da substituição dos inseticidas organofosforados e piretróides, que são comumente utilizados no controle destes insetos, por alternativas com menor impacto ambiental e mais seguras à saúde humana. Ademais, mais estudos são necessários para a avaliação do comportamento destes fungos em campo.

6 CONCLUSÕES

A intensidade dos danos ocasionados por insetos-praga como *C. maculatus*, *A. craccivora* e *N. corniger* pode ser elevada quando seus inimigos naturais não estão presentes na área de cultivo ou quando nenhum método de controle é utilizado. Na avaliação da infectividade *in vitro* dos fungos, *T. asperellum* (URM 7897) comprovou sua patogenicidade contra o caruncho e o pulgão-preto, logo, este isolado foi selecionado para testes futuros contra outros estágios de desenvolvimento do coleóptero e em casa de vegetação contra o afídeo. Notáveis percentuais de mortalidade também foram observados por URM 7898 (*T. asperelloides*) contra o caruncho e URM 8251 (*T. atroviride*) contra o pulgão, desse modo tais isolados também foram selecionados para testes posteriores contra estes insetos. No mais, em condições laboratoriais, *T. afroharzianum* (URM 7895) e *T. asperellum* (URM 7902) foram as espécies que causaram maior mortalidade ao cupim, entretanto torna-se necessário a realização estudos adicionais para verificar a eficácia desses fungos em campo. Dessa forma, o emprego de *Trichoderma* como fungos entomopatogênicos possibilita novas estratégias de controle contra estes três insetos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.; JIANG, D.; FU, Y. *Trichoderma* spp. as Antagonist of *Rhizoctonia solani*. **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, Brussels, v. 8, n.3, p. 1-9, 2017.
- ABDOU, W. L.; ABDEL-HAKIM, E. A.; METWALLY, M.M. Influence of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* on the Mortality, Reproduction and Enzyme Activity of the Aphid Adults *Aphis craccivora* (Koch). **Middle East Journal of Applied Science**, Egito, v. 7, n.3, p. 567-573, 2017.
- ABDU-ALLAH, G. M et al. Comparative efficiency of the fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and the natural product spinosad, using three economic coleopterous stored grain insects. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, Egito, v.25, n.3, p. 715-720,2015.
- ABDUL-WAHID, O. A.; ELBANNA, S. M. Evaluation of the insecticidal activity of *Fusarium solani* and *Trichoderma harzianum* against cockroaches; *Periplaneta Americana*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 5, p. 1024-1032, 2012.
- ABREU, R.L.S et al. Avaliação de danos por insetos em toras estocadas em indústria madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n.6, p. 789–796, 2002.
- ADEBAYO, R. A.; ADEGBENRO, T. A.; HASSAN, G. F. Occurrence of Pathogens on Grains of Cowpea (*Vigna unguiculata* Walpers) and Maize (*Zea mays* L) Infested by *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Sitophilus zeamais* Mots. **Acta Scientific Agriculture**, v.4, n.1, p. 15-22, 2019.
- AGROFIT. 2019. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/!crialov_ingredientes_ativos. Acesso em: 26 out. 2019.
- AJAYI, A.M.; OYEDELE, A.C. Evaluation of *Allium sativum* (Linn) Crude Extracts and *Trichoderma asperellum* (Samuels. Lieckf) for Antifungal Properties against Cowpea Anthracnose Pathogen. **Applied Tropical Agriculture**, v. 21, n.1, p. 39-45, 2016.
- AKINKUROLERE, R. O.; ADEDIRE, C. O.; ODEYEMI, O. O. Laboratory evaluation of the toxic properties of forest anchomanes, *Anchomanes difformis* against pulse beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Insect Science**, v. 13, n.1, p. 25-29, 2006.
- ALBUQUERQUE, A. C. et al. Urban Termites of Recife, Northeast Brazil (Isoptera). **Sociobiology**, Feira de Santana, v. 59, n. 1, p. 183-188, 2014.
- ALBUQUERQUE, A.C. et al. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridium* sobre *Nasutitermes coxipoensis*. **Neotropical Entomology**, Switzerland, v. 34, n.4, p.585-589, 2005.
- ALLAN, M et al. Integration of Entomopathogenic Fungi as Biopesticide for the management of Cowpea Aphid (*Aphis craccivora* koch). **African Journal of Horticultural Science**, v.9, p. 14-31, n.0, 2016.
- ALMEIDA, F. DE A.C et al. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão *Vigna* (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, n. 4, p. 585-590, 2005.

- ALMEIDA, F. DE A.C. et al. Controle do caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera:Bruchidae) utilizando extratos de *Piper nigrum* L. (Piperaceae) pelo método de vapor. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n.4, p.793-797, 2006.
- ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B. Seleção de armadilhas para a captura de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, n.3, p. 619-624, 1995.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: _____. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, SP: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 1986. p 73-122,.
- ALVES, S. B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: _____. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, SP: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 1998. p 21-38.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na américa latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (ed.). **Controle microbiano de pragas na américa latina: avanços e desafios**. 1.ed. Piracicaba, SP: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 2008, v.1, p. 69-110.
- ALVES, A. L.; NUNES, M. Uso de *trichoderma* spp. no controle de doenças da cultura do feijoeiro. **Revista Técnico-Científica**, n. 4, 2016.
- AMARAL, P. P. et al. Promotores de crescimento na propagação de caroba. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, PR, v. 37, n.90, p. 149-157, 2017.
- AMARAL, R. D. A. M. **Diagnóstico da ocorrência de cupins xilófagos em árvores urbanas do bairro de Higienópolis, na cidade de São Paulo**. 2002. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia**. Piracicaba, SP: Agronômica Ceres Ltda, 2011.
- ANWAR, W. et al. First record of *Trichoderma longibrachiatum* as entomopathogenic fungi against *Bemisia tabaci* in Pakistan. **Pakistan Journal of Phytopathology**, Paquistão, v. 28, n.2, p. 287- 294, 2016.
- ARAÚJO, J. P. P. D. et al. **Cultura do caupi, *Vigna unguiculata* (L.) walp, descrição e recomendações técnicas de cultivo**. Goiânia; 1984. 82 p. (Embrapa-CNPAP. Circular técnica 18).
- ATANASOVA, L.; DRUZHININA, I. S.; JAKLITSCH, W.M. Two Hundred *Trichoderma* species recognized based on molecular phylogeny. In: MUKHERJEE, P.K.; SIGH, U.S.; HORWITZ, B.; SCHOMOLL, M.; MUKHERJEE, M. (eds). **Trichoderma:biology and applications**. Nosworthy way: Cabi, 2013. p. 10-42.
- AUGUSTIN, J. O.; DIEHL, E.; SAMUELS, R. I.; ELLIOT, S. L. **Fungos parasitas de formigas-cortadeiras e de seu fungo mutualistico. Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**.Viçosa: UFV, 2011.
- BAILEY, J. A. **Biology and molecular Biology of plant-Pathogen interactions**. Berlin: Springer-Verlag, 1985.
- BARIBUTSA, D. et al. Purdue improved cowpea storage (PICS) technology. **Gates Open Res**, v. 3, n.1, p. 1-4, 2019.

BATTA, Y. A.; KAVALLIERATOS, N. G. The use of entomopathogenic fungi for the control of stored-grain insects. **International Journal of Pest Management**, v. 64, n.1, p. 77-87, 2018.

BECK, C. W.; BLUMER, L. S. **A handbook on bean beetles, *Callosobruchus maculatus***. Goergia: National Science Foundation, 2014. Disponível em:< <http://www.beanbeetles.org/handbook.pdf> >. Acesso em: 05.10.2019

BEGUM S. et al. Assessment of Mycelia Extract from *Trichoderma harzianum* for its Antifungal, Insecticidal and Phytotoxic Importance. **Journal of Plant Biochemistry & Physiology**, v. 6, n. 1, p. 1-5, 2018.

BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n.4, p. 249-260, 2004.

BERINI F. et al. Effects of *Trichoderma viride* chitinases on the peritrophic matrix of Lepidoptera. **Pest management Science**, v. 72, n. 5, p. 980-989, 2016.

BERTI FILHO, E. **Cupins ou Térmitas–Manual de Pragas em Florestas**. São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), 1993. Disponível em:< https://www.ipef.br/publicacoes/manuais/manual_pragas_v3.pdf >. Acesso em: 06.10.2019.

BISSETT, J. et al. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. **IMA Fungus**, v. 6, n.2, p. 263–295, 2015.

BLACKMAN, R. L; EASTOP VF. Taxonomic Issues. In: VAN EMDEN HF; HARRINGTON R. (ed.). **Aphids as crop pests**. London: Cabi, 2007, p. 115-134.

BONETT, L. et al. Biocontrole in vitro de *Colletotrichum musae* por isolados de *Trichoderma* spp. biocontrol of *colletotrichum musae* in vitro by isolates of *Trichoderma* spp. **Uniciências**, v. 17, n. 1, p. 5-10, 2013.

BOULOGNE, I. et al. Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 1, p. 19-37, 2016.

BRECHELT, A. **O Manejo Ecológico de Pragas e Doenças**. República Dominicana: Rede de Ação em Praguicidas e suas Alternativas para a América Latina (RAP-AL), 2004.

BROTMAN, Y.; KAPUGANTI, J. G.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, n 9, p. R390–R391, 2010

BUENO, V. H. P. Controle biológico de pulgões ou afídeos-praga em cultivos protegidos. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 225, p. 9-17, 2005.

BUNBURY-BLANCHETTE, A. L.; WALKER, A. K. *Trichoderma* species show biocontrol potential in dual culture and greenhouse bioassays against *Fusarium* basal rot of onion. **Biological control**, v. 130, n. 0, p. 127-135, 2019.

BUTT, T. M. et al. Entomopathogenic fungi: new insights into host–pathogen interactions. **Advances in genetics**, v. 94, n.0, p. 307-364, 2016.

CABRERA, B.J.; KAMBLE, S.T. Effect of decreasing thermophotoperiod on Eastern subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arquivos Instituto Biológico de São Paulo**, v 30, n.2, p. 166-167, 2001.

CAPINERA, J. L. Handbook of vegetable pests. San Diego: Academic; 2001.

CARMONA, A. et al. Effect of black bean tannins on in carbohydrate digestion and absorption. **J. Nutr. Biochem.** v. 7, n. 8, p. 455- 450,1996.

CAVERO, P. A. S. et al. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 951-957, 2015.

CHAGAS L. et al. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.4, n.3, p. 97-102, 2017.

CHAGAS L.F.B. et al. Efficiency of *Trichoderma* spp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 437-445, 2016.

CHERRY, A. J.; ABALO, P.; HELL, K. A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 3, p. 295-309, 2005.

CHERRY, A. J.; ABALO, P.; HELL, K.; KORIE, S. Farm-scale trials to compare the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with pirimiphos methyl+ deltamethrin and essential oil of lemon grass for protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Annals of applied Biology**, v. 151, n. 1, p. 1-10, 2007.

COLLA, L. M. et al. Isolamento e seleção de fungos para Biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n.3, p. 809-813, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. Observatório agrícola acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2019/20 - quarto levantamento. Brasília, DF: Conab, 2020. V. 7, p. 1-104.

CONSTANTINO R. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. **Journal of Applied Entomology**, v.126, n. 7, p. 355-365,2002.

CONSTANTINO, R. OnLine Termites Database. Disponível em:< <http://164.41.140.9/catal/>> . Acesso em: 25.ago.2019

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin dependent mechanism in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 149, n.3, p. 1579-1592, 2009.

COSTA, A. F.; OLIVEIRA, L. G.; SOUZA, M. C. M.; LEITE, N. G. ARAÚJO; CANUTO, V. T. B. Melhoramento do feijão-caupi para o Semiárido brasileiro: situação atual e perspectiva. In: XIMENES, L. F. (org.). **Tecnologias de Convivência com o Semiárido brasileiro**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2019. v.1, p. 747-808.

COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-Praga: Morfologia, Biologia e Controle**. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, 2002.

CREDLAND, P.F. Effect of host availability on reproductive performance in *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchinae). **The Journal of Stored Products Research**, v. 22, n. 1, p. 49-54, 1987.

CREMER, S.; ARMITAGE, S.A.; SCHMID-HEMPEL, P. Social immunity. **Current Biology** v. 17, n. 16, p. 693–702.

CREMER, S.; PULL, C.D.; FÜRST, M.A. Social immunity: Emergence and evolution of colony-level disease protection. **Annual Review of Entomology**, v.63, n.1, p. 105–123, 2018.

CUNHA, F.M. et al. Hemocyte Characterization of *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae) Workers and Hemocyte Evaluation after Parasitism by *Metarhizium anisopliae*. **Neotropical Entomology**, v. 38, n.2, p.293-297, 2009.

DAGLISH, G.J.; NAYAK, M.K.; ARTHUR, F.H.; ATHANASSIOU, C.G. Insect pest management in stored grain. In: ATHANASSIOU, C. G., ARTHUR, F. H (Eds.). **Recent Advances in Stored Product Protection**. Berlin: Springer Berlin, 2018. v.1, p.45-63.

DELATE, K.M.; GRACE, J.K.; TOME, C.M. Potential use of pathogenic fungi in baits to control the formosan subterranean termite (Isoptera, Rhinotermitidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 119, n. 1-5, p. 429-433, 1995.

DEVI, M. B.; DEVI, N. V. Biology and morphometric measurement of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae) in green gram. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 2, n.3, p. 74-76, 2014.

DEVI, C. B.; KUSHWAHA, A.; KUMAR, A. Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Journal of food science and technology**, Índia, v. 52, n. 10, p. 6821-6827, 2015.

DEVIDE, A. C. P. et al. Produtividade de raízes de mandioca consorciada com milho e caupi em sistema orgânico. **Bragantia**, v. 68, n. 1, p. 145-153, 2009.

DRUZHININA I. et al. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, v. 47, n.2, p. 55–64, 2006.

DUTRA, A. S.; TEÓFILO, E. M. Envelhecimento acelerado para avaliar o vigor de sementes de feijão caupi. **Revista Brasileira de sementes**, v. 29, n. 1, p. 193-197, 2007.

EMERSON, A.E. Termite nest. A study of the phylogeny of behavior. **Ecology Monographs**, v. 8, n. 2, p. 247-284, 1938.

ESPOSITO, E.; SILVA, M. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. **Critical Review in Microbiology**, v. 24, n.2, p. 89-99, 1998.

EVANS T.; FORSCHLER B.; GRACE J.K. Biology of invasive termites: a worldwide review. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n.1, p. 455–474, 2013.

EZZI, M. I.; LYNCH, J. M. Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, n. 7, p. 849-854, 2005.

FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 4, n.3, p. 237-256, 2007.

FARONI, L. R. D'A. ; SILVA, J.S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J.S. (Ed.). **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008. p.371-406.

FERNANDES, P.M.; ALVES, S.B. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 21, n. 3, p. 319-328, 1992.

FINKLER, C.L.L. **Controle de insetos: uma breve revisão**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

FONTES L.R.; MILANO, S. Termites as an urban problem in South America. **Sociobiology**, v. 40, n.1, p.103–151, 2002.

FONTES, L. R. Cupins em áreas urbanas. In: BERTI FILHO E. (eds.). **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. Piracicaba: FEALQ, 1995, p. 57- 76.

FREIRE FILHO F.R. et al. Adaptabilidade e estabilidade da produtividade de grãos de genótipos de caupi enramador de tegumento mulato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 591-598, 2003.

FREIRE FILHO, F. R. Produção de sementes de culturas em expansão: a cultura do feijão-caupi. In: EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 2015, Curitiba. **Anais..** Curitiba, PR: Informativo ABRATES, 2015. p.1.

FREIRE FILHO, F. R. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte-Livro científico (ALICE), 2011. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/916831/1/feijaocaupi.pdf>. Acesso em: 14/06/2019.

FREITAS, A. S. de et al. Ocorrência de vírus em cultivos de feijoeiro-caupi no Sertão da Paraíba. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n.4, p. 286-290, 2012.

GALLO, D. O.; NAKANO, S.S.; NETO, R.P.L.; CARVALHO, G.C.; BATISTA, E.B.; FILHO, J.R.P.; PARRA, R.A.; ZUCCHI, S.B.; ALVES; J.D. VENDRAMIM. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, SP: FEALQ, 2002. Disponível em: < https://ocondedemontecristo.files.wordpress.com/2013/07/livro-entomologia-agrc3adcola-_jonathans.pdf>. Acesso em:12/08/2019.

GALLO, D.; NAKANO, O.; WIENDL, F. M.; NETO, S. S.; CARVALHO, R.P.L. Métodos de Controle Biológico. In: GALLO, D (ed.). **Manual de Entomologia: Pragas das plantas e seu controle**. São Paulo: CERES, 1970. v. 1, p. 225-227.

- GAMS, W.; BISSETT, J. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: HARMANN, G.E.; KUBICEK, C.P. (eds). **Trichoderma and Gliocladium**. London: Taylor and Francis, 1998. v. 1, p. 3–34.
- GANASSI, S.; MORETTI, A.; STORNELLI, C.; FRATELLO, B.; PAGLIAI, A. B.; LOGRIECO, A.; SABATINI, M. A. Effect of *Fusarium*, *Paecilomyces* and *Trichoderma* formulations against aphid *Schizaphis graminum*. **Mycopathologia**, v. 151, n. 3, p. 131–138, 2001.
- GAZAL, V; BAILEZ O; VIANA-BAILEZ, A.M.; AGUIAR-MENEZES, E.L.; MENEZES, E.B. Decayed wood affecting the attraction of the pest arboreum termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) to resource foods. **Sociobiology**, v. 59, n.1, p. 287–295, 2012.
- GHOSH, S.; PAL, S. Entomopathogenic potential of *Trichoderma longibrachiatum* and its comparative evaluation with malathion against the insect pest *Leucinodes orbonalis*. **Environmental monitoring and assessment**, v. 188, n.1, p. 1–37, 2016.
- GINDIN, G. et al. Entomopathogenic fungi as a potential control agent against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* in broiler houses. **BioControl**, v. 54, n. 4, p. 549–558, 2009.
- GOETTEL, M.S.; INGLIS, G.D. Fungi: hyphomycetes. In: LACEY L. A. (ed). **Manual of techniques in insect pathology**. San Diego: Academic Press, 1997, vol 5–3, p 213–248.
- GONZÁLEZ-SANTOYO, I.; CÓRDOBA-AGUILAR, A. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 142, n.1, p. 1–16, 2012.
- GOVORUSHKO, S. Economic and ecological importance of termites: A global review. **Entomological science**, v. 22, n. 1, p. 21–35, 2018.
- GRASSÉ, P.P. Termitologia. Anatomie, physiologie, biologie-systématique des termites. Tome III: Comportement, socialite, ecologie, evolution, systematique. New York; 1982.
- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, n. 1, p. 6–16, 2018.
- HADDAD, P. E.; LEITE, L. G.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Selection of *Trichoderma* spp. strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1140–1148, 2017.
- HAINES, C.P. Observation on *Callosobruchus analis* (F.). In Indonesia, including a key to storage *Callosobruchus* spp. (Col.: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 25, n. 1, p. 9–16, 1989.
- HAMILTON, W. Kinship, recognition, disease, and intelligence: Constraints of social evolution. In: ITO, Y.; BROWN, J.; KIKKAWA, J. (Eds). **Theories and Facts**. Tokyo: Animal Societies, 1987, v. 1, p. 81–102.
- HANEL, H.A. A bioassay for measuring the virulence of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok (Fungi Imperfect) against the *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). **Zeitschrift Angewandte Entomologie**, v. 92, n. 1–5, p. 9–18, 1981.
- HARMAN, G. et al. *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43–56, 2004.

HARMAN, G.E. 50 Years of Development of Beneficial Microbes for Sustainable Agriculture and Society: Progress and Challenges Still to Be Met—Part of the Solution to Global Warming and “Hothouse Earth”. In: SINGH D.P.; PRABHA, R.; GUPTA, V. K. (Eds) **Microbial Interventions in Agriculture and Environment**. Singapore, 2019, v. 1, p. 1-28.

HARMAN, G.E.; UPHOFF N. Symbiotic Root-Endophytic Soil Microbes Improve Crop Productivity and Provide Environmental Benefits. **Hindawi Scientifica**, v. 2019, p.1-25, 2019.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377–393, 2000.

HASAN, S. Potential of *Trichoderma* sp. in Bioremediation: A Review. **J Basic Appl Eng Res**, v. 3, n. 9, p. 776-779, 2016.

HELBIG, E. **Ação da maceração prévia ao cozimento do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L) nos teores de fitatos e taninos e consequência sobre o valor protéico**. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição- Nutrição básica e experimental) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2000.

HOLT, J. A.; LEPAGE, M. Termites and soil properties. In: ABE, T.; BIGNEL, D. E.; HIGASHI, M. **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. 1. ed. Dordrecht: Springer, 2000. p. 389-407.

HORSFALL, J.G.; COWLING, E. B. **Plant Disease: Na advanced Treatise. How Diseases Develop in populations**. New York: Academic press, 1980.

HOWE, A. G. et al. Spatial and taxonomical overlap of fungi on phylloplanes and invasive alien ladybirds with fungal infections in tree crowns of urban green spaces. **FEMS microbiology ecology**, v. 92, n. 9, p. 143, 2016.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

HUMBER, R. A. Fungal pathogens of aphids. In: PETERS, D. C.; WEBSTER, J. A.; CHLOUBER C. S. (eds). **Aphid-plant interactions: Populations to molecules**. Oklahoma: Stillwater, 1991, p. 45–56.

IBRAHIM, H. Y. E. et al. Survey of entomopathogenic fungi naturally infecting cowpea aphid, *Aphis craccivora*. KOCH. **Journal of Plant Protection and Pathology**, v. 2, n. 12, p. 1063-1070, 2011.

ILHARCO, F. A. **Equilíbrio biológico de afídeos**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992.

JABER, L. R.; OWNLEY, B. H. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens. **Biological control**, v. 116, n.0, p. 36-45, 2018.

JESSICA, J. J. et al. Evaluation of the virulence of entomopathogenic fungus, *Isaria fumosorosea* isolates against subterranean termites *Coptotermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Forestry Research**, v. 30, n. 1, p. 213-218, 2019.

KHALEIL, M. et al. Biocontrol Potential of Entomopathogenic Fungus, *Trichoderma Hamatum* against the Cotton Aphid, *Aphis Gossypii*. **Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, v. 10, n. 5, p. 11-20, 2016.

KHAN, M. R.; AHMAD, I.; AHAMAD, F. Effect of pure culture and culture filtrates of *Trichoderma* species on root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* infesting tomato. **Indian Phytopathology**, v. 71, n. 2, p. 265-274, 2018.

KATH, J.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, J. C. A.; HOMIAK, J. A.; SILVA, C. R. D.; CARDOSO, C. R. Control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean with *Trichoderma* spp. and resistance inducers. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 11-12, p. 791-799, 2017.

KORB, J. **Termites**. Current Biology, v. 17, p. R995-R999, 2007.

KRISHNA, K. **Introduction. In Biology of térmites**. New York: Academic Press, 1969.

KRISHNA, K. et al. Treatise on the Isoptera of the World INTRODUCTION. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 377, p. 7-+, 2013.

LAAMARI, M.; KHELFA, L.; COEUR D'ACIER, A. Resistance source to cowpea aphid (*Aphis craccivora*) in broad bean (*Vicia faba* L.) Algerian Landrace collection. **African Journal of Biotechnology**. v. 7, n°. 14, p. 2486-2490, 2008.

LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of invertebrate Pathology**, v. 132, n.0, p. 1-41, 2015.

LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biological control**, v. 21, n. 3, p. 230-248, 2001.

LAI, P. Y.; TAMASHIRO, M.; FUJIT, J. K. Pathogenicity of six strains of entomogenous fungi to *Coptotermes formosanus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 39, n. 1, p. 1-5, 1982.

LAVOR, M.T.F.C. **Atividades biológica de produtos domissanitários para o controle alternativo do pulgão-preto no feijão de corda**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

LAWRENCE, A. A.; KHAN, A. Comparison of the pathogenicity of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* to *Callosobruchus maculatus*. **International pest control**, v. 44, n. 3, p. 125-127, 2002.

LEE, K. E.; WOOD, T. G. **Termites and soils**. London: Academic press, 1971.

LEJOLY J. et al. Effects of termite sheetings on soil properties under two contrasting soil management practices. **Pedobiologia**, v. 76, n. 0, p. 150-573, 2019.

LI, Y. Y. et al. Construction of transgenic *Trichoderma koningi* with chit42 of *Metarhizium anisopliae* and analysis of its activity against the Asian corn borer. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 47, n. 7, p. 622-630, 2012.

LIMA, V. L.de S.; BAILEZ, O. E.; VIANA-BAILEZ, A. M.. Caste polymorphism of apterous line of the Neotropical termite *Nasutitermes corniger* (Motschulsky)(Isoptera, Termitidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 57, n. 3, p. 309-312, 2013.

- LIMA, B. M. F. V. et al. Entomopathogenic fungi associated with citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) in Southern Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, 2017.
- LIMA, J. T.; COSTA-LEONARDO, A. M. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera). **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 243-250, 2007.
- LOPES, R. da S. et al. The potential of *Isaria* spp. as a bioinsecticide for the biological control of *Nasutitermes corniger*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, n. 9, p. 1038-1048, 2017.
- LÓPEZ-BUCIO, J.; PELAGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia horticulturae**, v. 196, n.0, p. 109-123, 2015.
- LORENCETTI, G. A. T. et al. Spontaneous occurrence of *Beauveria bassiana* Vuill. 1912 (Ascomycetes: Clavicipitaceae) on *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Ciência Florestal**, v. 27, n. 4, p. 1403-1407, 2017.
- LUCON, C. M. M. et al. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.
- MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MAHDNESHIN, Z. et al. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, Iranian isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin against the control of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 29, p. 5215-5220, 2011.
- MARICONI, F.A.M.; FONTES L.R.; ARAÚJO, R.L. Os cupins. In: _____. **Insetos e outros invasores de residências**. Piracicaba, SP: FEALQ, 1999. p. 35-90
- MATHEW, G. M. ET AL. Microbial community analysis in the termite gut and fungus comb of *Odontotermes formosanus*: the implication of *Bacillus* as mutualists. **FEMS microbiology ecology**, v. 79, n. 2, p. 504-517, 2012.
- MBARGA, J. B. et al. *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. **Crop Protection**, v. 36, p. 18-22, 2012.
- MCMAHAN, E. A. Bait-and-capture strategy of a termite-eating assassin bug. **Insectes sociaux**, v. 29, n. 2, p. 346-351, 1982.
- MEIKLE, W. G. et al. Evaluation of an entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith (Deuteromycota: Hyphomycetes) obtained from Formosan subterranean termites (Isoptera, Rhinotermitidae). **Journal of applied Entomology**, v. 129, n. 6, p. 315-322, 2005.
- MELLO, A. P. et al. Chemical composition and variability of the defensive secretion in *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1885) in urban area in the Brazilian semiarid region. **Entomotropica**, v. 31, p. 82-90, 2016.

DE MELO, B. A. et al. Bioatividade de pós de espécies vegetais sobre a reprodução de *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.

MENDES, J.B. S. et al. *Trichoderma* and *bradyrhizobia* act synergistically and enhance the growth rate, biomass and photosynthetic pigments of cowpea (*Vigna unguiculata*) grown in controlled conditions. **Symbiosis**, v. 80, n. 2, p. 133-143, 2020.

MILNER RJ. *Metarhizium flavoviride* (FI985) as a promising mycoinsecticide for Australian acridids. In: GOETTEL MS, JOHNSON DL (eds). **Microbial Control of Grasshoppers and Locusts**. Canada: Memoirs of the Entomological Society of Canada, 1997. v. 171, p. 287–300.

Mona K, El- Moughith A, Hashem, Noha H L (2016) Biocontrol Potential of Entomopathogenic Fungus, *Trichoderma Hamatum* against the Cotton Aphid, *Aphis Gossypii*. IOSR-JESTFT 10: 11-20.

MORANDI M.; BETTIOL W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In:_____. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. pp 7-14.

MURAD, A. M. et al. Screening of entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* isolates and proteomic analysis of secretion synthesized in response to cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) exoskeleton. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 142, n. 3-4, p. 365-370, 2006.

MWEKE, A. et al. Efficacy of aqueous and oil formulations of a specific *Metarhizium anisopliae* isolate against *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae) under field conditions. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 10, p. 1182-1192, 2019.

MWEKE, A. N. **Development of entomopathogenic fungi as biopesticides for the management of Cowpea Aphid, *Aphis craccivora* Koch**. Alemanha: Cuvillier Verlag, 2018.

MYLES, T. G. Review of secondary reproduction in termites (Insecta: Isoptera) with comments on its role in termite ecology and social evolution. **Sociobiology**, v. 33, n. 1, p. 1-91, 1999.

NAWROCKA, J. et al. Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25. **Protoplasma**, v. 255, n. 1, p. 359-373, 2018.

NEVES, P. J; ALVES, S. B. Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e imidacloprid. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 2, p. 305-311, 1999.

NIETO-JACOBO, M. F. et al. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 102, 2017.

NOIROT, C. Sexual castes and reproductive strategies in termites. In: ENGELS, W. (ed.) **Social Insects – an evolutionary approach to castes and reproduction**. New York: Springer-Verlag, 1990, p. 5-35.

- OBANDA, D. N.; SHUPE, T.F.; CATALLO, W. J. Resistance of *Trichoderma harzianum* to the biocide tebuconazol–proposed biodegradation pathways. **Holzforschung**, v. 62, n. 5, p. 613-619, 2008.
- OBOPILE, M. Economic threshold and injury levels for control of cowpea aphid, *Aphis crassivora* Linnaeus (Homoptera: Aphididae), on cowpea. **African Plant Protection**, v. 12, n. 1, p. 111-115, 2006.
- OCIEPA, E. The Effect of Fertilization on Yielding and Heavy Metals Uptake by Maize and Virginia Fanpetals (*Sida Hermaphrodita*). **Archives of Environmental Protection**, v. 37, n. 2, p. 123 – 12, 2011.
- OFUYA, T. I. Control of the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae), in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Integrated pest management reviews**, v. 2, n. 4, p. 199-207, 1997.
- ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. O. Molecular genetics of *Beauveria bassiana* infection of insects. In: Lovett, B.; Leger, R. J. St. **Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi**. Academic Press, 2016, v. 94, p. 165-249.
- ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. O. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 357-374, 2013.
- ORTUÑO, N. et al. The use of secondary metabolites extracted from *Trichoderma* for plant growth promotion in the Andean highlands. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 32, n. 4, p. 366-375, 2017.
- PACHECO, K. R. et al. Efficacy of *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* and *T. reesei* against *Sclerotium rolfsii*. **Bioscience journal**, Uberlândia, v. 32, n. 2, p. 412-421, 2016.
- PARNELL, J. J. et al. From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1110, 2016.
- PEREIRA, F. T. et al. Growth promotion and productivity of lettuce using *Trichoderma* spp. commercial strains. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 69-74, 2019.
- PETTERSSON, J. et al. The cowpea aphid, *Aphis craccivora* host plant odours and pheromones. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.88, p. 177-184, 1998.
- PODDER, D.; GHOSH, S. Kr. A new application of *Trichoderma asperellum* as an anopheline larvicide for eco friendly management in medical science. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2019.
- POMELLA, A.W.V.; RIBEIRO, R.T.S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas- Uma visão empresarial. In: MORANDI M.; BETTIOL W (eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. 1º ed. Jaguariuna; Embrapa Meio Ambiente, 2009, p.235-244.
- QUINTELA, E. D. et al. **Principais pragas do caupi no Brasil**. EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 1991.
- R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.(2019).

- RABINOVITCH, L., CAVADOS, C.F.G., LIMA, M.M. O controle biológico de insetos nocivos à agricultura com o emprego de fungos imperfeitos ou hifomicetos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano III, 6: 9-13, 1998.
- RAMOS, S. M. S. **Isolamento e seleção de fungos de solo para biodegradação do pesticida organofosforado clorpirifós**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2014.
- RATH, A. C. The use of entomopathogenic fungi for control of termites. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, n. 5, p. 563-581, 2000.
- RATH, A.C.; TIDBURY, C.A. Susceptibility of *Coptotermes acinaciformis* (Isoptera: Rhinotermitidae) and *Nasutitermes exitiosus* (Isoptera: Termitidae) to two commercial isolates of *Metarhizium anisopliae*. **Sociobiology**, v. 28, p. 67-72, 1996.
- RIBEIRO-COSTA, C.S.; ALMEIDA, L.M. Bruchinae (Coleoptera: Chrysomelidae). In: PANIZZ, A.R.; PARRA, J.R.P. (Eds.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009, p.523-567.
- ROBINSON, W. H. **Urban entomology: Insect and mite pests in the human environment**. 1 ed. London: Chapman & Hall, 1996.
- RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Á. et al. Inhibitory activity of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma* spp. on the insect pests *Xylotrechus arvicola* (Coleoptera: Cerambycidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Environmental monitoring and assessment**, v. 189, n. 1, p. 1-8, 2017.
- ROISIN, Y. Diversity and evolution of caste patterns. In: ABE, T; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (eds.) **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. pp. 95-119.
- ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas e patógenos**. Viçosa: Ed. UFV, 45 p. (Caderno Didático nº 56), 1999.
- ROY HE, BRODIEEL, CHANDLER D, GOETTEL MS, PELL JK, WAJNBERGE, VEGA F. Deep space and hidden depths: understanding the evolution and ecology of fungal entomopathogens. In: _____. **The Ecology of Fungal Entomopathogens**. Dordrecht: Springer, 2010. v. 55, p. 1-6.
- SÁNCHEZ-PEÑA, S. R.; LARA, J. SJ; MEDINA, R. F. Occurrence of entomopathogenic fungi from agricultural and natural ecosystems in Saltillo, México, and their virulence towards thrips and whiteflies. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 1, p. 1, 2011.
- SABBOUR, M. M.; ABD-EL-AZIZ, SH. E. Efficacy of some bioinsecticides against *Bruchidius incarnates* (Boh) (Coleoptera: Bruchidae) infestation during storage. **Journal of plant protection research**. v. 50, n. 1, p. 25-31, 2010.
- SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil biology and biochemistry**, v. 40, n.8, p. 2016-2020, 2008.
- SALLENAVE, Claire et al. Bioaccumulation of mycotoxins by shellfish: contamination of mussels by metabolites of a *Trichoderma koningii* strain isolated in the marine environment. **Toxicon**, v. 37, n. 1, p. 77-83, 1999.

- SALLENAVE-NAMONT, C. et al. Toxigenic saprophytic fungi in marine shellfish farming areas. **Mycopathologia**, v. 149, n. 1, p. 21-25, 2000.
- SANTOS, A. F.; KLEINA, H.T.; FUZITANI, E. J.; DUARTE, H. S. S. Uso do *Trichoderma* em culturas florestais. In: Meyer M C, Mazaro, S M, Silva J C da (Ed) **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa Soja, 2019, v. 1, pp 521-536.
- SCHEFFRAHN, R.H. et al. *Nasutitermes costalis* (Isoptera: Termitidae) in Florida: first record of a non-endemic establishment by a higher termite. **Florida Entomologist**, v. 85, n. 1, p. 273-275, 2002.
- SCHEFFRAHN, R.H. et al. Synonymy of neotropical arboreal termites *Nasutitermes corniger* and *N. costalis* (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), with evidence from morphology, genetics, and biogeography. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, n. 3, p. 273-281, 2005.
- SCHEFFRAHN, R.H. et al. Taxonomy, biogeography, and notes on termites (Isoptera: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Termitidae) of the Bahamas and Turks and Caicos Islands. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 99, n. 3, p. 463-486, 2006.
- SCHMID-HEMPEL, P. **Parasites in Social Insects**. New Jersey: Princeton University Press, 1998.
- SHAMS, G. et al. A laboratory assessment of the potential of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Beauvarin) to control *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus granarius* (L.)(Coleoptera: Curculionidae). **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 10, p. 1192-1196, 2011.
- SHARON, E. et al. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v.91, p.687-693, 2001.
- SILVA JUNIOR, E. B.; RUMJANEK, N. G.; JARDIM, E. R.; LINHARES, R. A.; XAVIER, G. R. **Adoção da tecnologia de inoculação do feijão-caupi por agricultores familiares do estado do rio de janeiro através de metodologia participativa**. Revista Expressa Extensão/ UFPel, Pelotas, v. 14, p.104-109, 2009.
- SILVA, P. H.S. Pragas da Cultura do Feijão-caupi. In: BASTOS, E. A. (cord.). **A cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina, Piauí: EMBRAPA Meio Norte, 2016, p.13-44.
- SILVA, P.H.S.; CARNEIRO, J.S.; QUINDERÉ, M.A.W. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A. DE A.; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão – caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 368-402
- SILVA, P.S.L.; OLIVEIRA, C.N. Rendimentos de feijão verde e maduro de cultivares de caupi. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 11, n. 2, p 133-135, 1993.
- SILVA, V. N. da et al. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2011.
- SIMONATO, J; GRIGOLLI, J. F. J; OLIVEIRA, H. N. **Controle biológico de insetospraga na soja**. Tecnologia e Produção: Soja 2013/2014.

SING, N. N. et al. Bioremediation of PCP by *Trichoderma* and *Cunninghamella* strains isolated from sawdust. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 6, p. 811-820, 2014.

SINGH, A. et al. Review on Plant-*Trichoderma*-Pathogen Interaction. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, p. 2382-2397, 2018.

SINGH, S. R.; JACKAI, L. E. N. Insect pests of cowpeas in Africa, their life cycle, economic importance, and potencial for control. In: S.R.; RACHIE, K. O. (Eds) **Cowpea research, production and utilization**. Chichester: Wiley, 1985, pp. 217-231.

SOUZA, K. P. DE A. **Avaliação do potencial de controle biológico de *Guignardia citricarpa* (KIELY) fitopatógeno de citros com isolados de *Trichoderma* SPP.** 2013. Dissertação (mestrado em Biotecnologia)- Universidade de Caxias do Sul – UCS, Caxias do sul, 2013.

SREERAMA, L.; VEERABHADRAPPA, P. S. Isolation and properties of carboxylesterases of the termite gut-associated fungus, *Xylaria nigripes*. K., and their identity from the host termite, *Odontotermes horni*. W., mid-gut carboxylesterases. **International journal of biochemistry**, v. 25, n. 11, p. 1637-1651, 1993.

SRIVASTAVA, C. N. et al. Prospective role of insecticides of fungal origin. **Entomological Research**, v. 39, n. 6, p. 341-355, 2009.

STEENBERG, T. Safety aspects related to the use of entomopathogenic fungi in stored products. **In proceedings of the 6th meeting of cost action 842 working group IV Biocontrol of arthropod pests in stored products**. Locorotondo, Italy. 10-11 , 2005.

SUMIDA, C. H. et al. *Trichoderma asperelloides* antagonism to nine *Sclerotinia sclerotiorum* strains and biological control of white mold disease in soybean plants. **Biocontrol science and technology**, v. 28, n. 2, p. 142-156, 2018.

TAYASU, I. et al. Nitrogen and carbon isotope ratios in termites: an indicator of trophic habit along the gradient from wood-feeding to soil-feeding. **Ecological Entomology**, v. 22, n. 3, p. 343-351, 1997.

TEDERSOO, L. et al. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. **Fungal Diversity**, v. 90, n. 1, p. 135-159, 2018.

THORNE, B. L. Alate production and sex ratio in colonies of the Neotropical termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera; Termitidae). **Oecologia**, v. 58, n.1, p. 103-109, 1983.

THORNE, B. L. Polygyny in the Neotropical termite *Nasutitermes corniger*: life history consequences of queen mutualism. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 14, n. 2, p. 117-136, 1984.

THORNE, B. L.; HAVERTY, M. I. Nest growth and survivorship in three species of neotropical *Nasutitermes* (Isoptera: Termitidae). **Environmental Entomology**, v. 29, n. 2, p. 256-264, 2000.

THORNE, Barbara L.; COLLINS, Margaret S.; BJORNDALE, Karen A. Architecture and nutrient analysis of arboreal carton nests of two neotropical *Nasutitermes* species (Isoptera: Termitidae), with notes on embedded nodules. **Florida Entomologist**, v.79, n.1, p. 27-27, 1996.

TODOROVA, S. I.; CODERRE, D.; CÔTÉ, J.-C. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* isolates toward *Leptinotarsa decemlineata* [Coleoptera: Chrysomelidae], *Myzus persicae* [Homoptera:

Aphididae] and their predator *Coleomegilla maculata* lengi [Coleoptera: Coccinellidae].

Phytoprotection, v. 81, n. 1, p. 15-22, 2000.

TOSCANO, L. C. et al. Controle do cupim de montículo (isoptera: termitidae) de pastagem com fungos entomopatogênicos. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 2, p. 6-11, 2010.

TRANIELLO, J. FA; BUSHER, C. Chemical regulation of polyethism during foraging in the neotropical termite *Nasutitermes costalis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 11, n. 3, p. 319-332, 1985.

UNEP/FAO **Global IPM facility expert group on termite biology and management**. Finding alternatives to persistente organic pollutants (POPs) for termite management. 2000. Disponível em: https://nature.berkeley.edu/upmc/documents/UN_termite.pdf. Acesso em: 01.10.2019.

VALDERRAMA, M. et al. Fontes e doses de nitrogênio e fósforo em feijoeiro no sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 3, p. 191-196, 2009.

VALE, JC DO; BERTINI, C.; BOREM, A. **Feijão-caupi do plantio a colheita**. Viçosa, MG: UFV, 2017.

Valicente, F. H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. **Embrapa Milho e Sorgo- Artigo em periódico indexado (ALICE)**, v.30, n. 251, p. 48-55, 2009.

VASCONCELLOS, A. et al. Cupins de duas florestas de restinga do nordeste brasileiro. **Iheringia. Série Zoológica**, v. 95, n. 2, p. 127-131, 2005.

VEGA, F. E. et al. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. **Fungal ecology**, v. 2, n. 4, p. 149-159, 2009.

VERMA, M.; SHARMA, S.; PRASAD, R. Biological alternatives for termite control: a review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 8, p. 959-972, 2009.

VERMA, M. et al. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 1-20, 2007.

Vieira, R. F.; Vieira, C.; Ramos, J. A. de O. **Produção de sementes de feijão**. Viçosa: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), 1993.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; CALDAS, M. T. Comportamento do feijão-fradinho na primavera-verão na zona da mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1359-1365, 2000.

BOAS, AM V. et al. Patogenicidade de linhagens selvagens e mutantes de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* a *Callosobruchus maculatus* (Fab., 1792)(Coleoptera, Bruchidae)(Pathogenicity of wild strain and mutants of *M. anisopliae* and *Beauveria bassiana* to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 39, p. 99-104, 1996.

WAGHUNDE, R.R.; SHELAK, R. M.; SABALPARA, A. N. *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. **African journal of agricultural research**, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.

WAKEFIELD, M. E. Microbial Biopesticides. In: ATHANASSIOU, C.G.; ARTHUR, F.H. **Recent Advances in Stored Product Protection**. Heidelberg, Berlin: Springer, 2018. p. 143-168.

WOOD, T.G.; SANDS, W.A. The role of termites in ecosystems. In: BRIAN, M.V. (ED.) **Production Ecology of Ants and Termites**. Cambridge: Cambridge University Press, 1978, p. 245-292.

WRAIGHT, S.P.; HAJEK, A. E. Manipulation of arthropod pathogens for integrated pest management. In: RADCLIFFE, E. B.; HUTCHISON, W. D.; CANCELADO, R. E. (eds) **Integrated pest management: concepts, tactics, strategies and case studies**. Cambridge: University Press, New York, pp 131–150 2009

WRIGHT, M.S.; OSBRINK, W.L.A.; LAX, A.R. Transfer of entomopathogenic fungi among formosan subterranean termites and subsequent mortality. **Journal Applied Entomology**, v. 126, p. 20-23, 2002.

YEO, H. et al. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 59, n. 2, p. 156-165, 2003.

YODER, J. A. et al. The giant Madagascar hissing-cockroach (*Gromphadorhina portentosa*) as a source of antagonistic moulds: concerns arising from its use in a public setting. **Mycoses**, v. 51, n. 2, p. 95-98, 2008.

ZAFRA, G.; CORTÉS-ESPINOSA, D. V. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trichoderma* species: a mini review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 24, p. 19426-19433, 2015.

ZAHRAN, Z. et al. Laboratory efficacy of mycoparasitic fungi (*Aspergillus tubingensis* and *Trichoderma harzianum*) against tropical bed bugs (*Cimex hemipterus*) (Hemiptera: Cimicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 4, p. 288-293, 2017.

ZANETTI, R. ET al. **Manejo integrado de cupins**. Lavras, MG: UFLA, 2002, p .29.

ZANINI, A. **Controle biológico do pulgão de trigo *Sitobion avenae* (fabricius 1775) pelo parasitoide *Aphidius colemani* Viereck, 1912 em Medianeira, PR, Brasil**. 2004. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, 2004.

ZHANG, F. et al. *Trichoderma* biofertilizer links to altered soil chemistry, altered microbial communities, and improved grassland biomass. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 848, 2018.