



**CONTROLE ASSOCIADO DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES DE
Fusarium incarnatum-equiseti (FIESC) E EXTRATO DE MASTRUZ VISANDO
O CONTROLE DA COCHONILHA DO CARMIM**

BRUNO AUGUSTO DE ALENCAR VELEZ

**RECIFE
FEVEREIRO/2016**



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

**CONTROLE ASSOCIADO DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES DE
Fusarium incarnatum-equiseti (FIESC) E EXTRATO DE MASTRUZ VISANDO
O CONTROLE DA COCHONILHA DO CARMIM**

**BRUNO AUGUSTO DE ALENCAR
VELEZ**

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

Área de Concentração: Micologia Aplicada

Orientadora: Dra. Patricia Vieira
Tiago

Co-orientador: Dr. Antonio Félix da
Costa

**RECIFE
FEVEREIRO/2016**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Velez, Bruno Augusto de Alencar

Controle associado de isolados do complexo de espécies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) e extrato de mastroz visando o controle da Cochonilha do Carmim / Bruno Augusto de Alencar Velez. – Recife: O Autor, 2016.

52 f.: il.

Orientadores: Patrícia Vieira Tiago, Antônio Félix da Costa
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2016.
Inclui referências

1. Pragas – Controle biológico 2. Fungos entomopatogênicos I. Tiago, Patrícia Vieira (orient.) II. Costa, Antônio Félix da (coorient.) III. Título.

632.9

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017-133

**CONTROLE ASSOCIADO DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES DE
Fusarium incarnatum-equiseti (FIESC) E EXTRATO DE MASTRUZ VISANDO
O CONTROLE DA COCHONILHA DO CARMIM**

BRUNO AUGUSTO DE ALENCAR VELEZ

Dissertação defendida e aprovada em: 26/02/2016

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Dra. Patricia Vieira Tiago (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Virginia Michelle Svedese
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dra. Elza Áurea de Luna Alves Lima
Universidade Federal de Pernambuco

Agradecimentos

A Deus por me guiar e estar presente em todos os momentos.

À minha família por todo o apoio e confiança, especialmente, ao meu pai Genilson Velez, minha mãe Lúcia Alencar e meus irmãos Genilson e Gustavo.

As pessoas que me fazem feliz e que faço questão de dividir momentos como este, Brunno Sandes, Beatriz Coutinho, Duda Carvalho e Matheus Buril, pelo companheirismo, amor e apoio.

Aos amigos que fiz na graduação, em especial, Adelmo Vieira, Ana Rafaela Mota, Annie Viviane Lessa, Isabela Gonçalves, Izabella Ribeiro, José Monteiro, Natália Moraes, Roberta Alves, Tainá Ottoni e Thais Moreira. Agradeço pela convivência durante os quatros anos de graduação e pelas experiências compartilhadas.

À minha orientadora, Profa. Dra. Patrícia Viera Tiago, pela confiança, apoio, paciência e ensinamentos.

Ao meu co-orientador, Dr. Félix, pelo suporte, dicas e boa vontade na elaboração e execução do projeto.

As Dras. Elza Áurea de Luna Alves Lima e Virginia Michelle Svedese por terem aceitado a participação como banca examinadora.

Ao IPA e sua equipe que ajudaram e viabilizaram a execução do projeto.

A PERPART e agricultores do Assentamento Chico Mendes III pela disponibilização do mastruz.

A todos os colegas e amigos que fazem parte do Departamento de Micologia em especial aos do Laboratório de Fungos Fitopatogênicos, pela convivência, amizade e suporte.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo financiamento do trabalho.

RESUMO

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*) é uma planta originária do México, porém, se encontra bem adaptada e distribuída na região semiárida brasileira e é uma das principais espécies utilizadas na alimentação de bovinos, caprinos e ovinos. Essa cultura tem sido comprometida pela proliferação exacerbada da cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*), chegando a perdas de 100% de produtividade em alguns casos, logo, se faz necessário à elaboração de métodos que controle a praga. O controle microbiano por fungos entomopatogênicos e extratos vegetais tem se mostrado importante nesse sentido. O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência da associação de extrato de mastruz e de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) no controle da cochonilha do carmim *in vitro* e em casa de vegetação. Foi avaliada a compatibilidade entre os isolados FIESC 20-b com os extratos aquoso e hidroetanólico de mastruz através do Índice Biológico. Os bioensaios *in vitro* e em casa de vegetação foram realizados através de palmas infestadas com fêmeas adultas crescidas após 30 dias, a mortalidade corrigida foi determinada através da fórmula de Abbott (1925) e a confirmação do agente causal foi baseada no crescimento fúngico sobre os insetos em placas de Petri. A compatibilidade entre os fungos e os extratos revelou que os isolados URM6778, URM6779 e URM6782 foram os selecionados para bioensaios contra a cochonilha combinado ao extrato aquoso e os isolados URM6777, URM6778 e URM6779 foram os mais indicados para a porção hidroetanólica. Os melhores resultados dos bioensaios realizados em laboratório foram registrados pelo isolado URM6779 e seu uso combinado com os extratos aquoso (10%) e hidroetanólico (5%), tanto para a mortalidade corrigida quanto para a confirmada. Já para o bioensaio em casa de vegetação os tratamentos envolvendo o extrato aquoso (10%) e o isolado URM6779 em conjunto com este extrato apresentaram os melhores resultados para estudos em campo, 66,25 e 44,5 respectivamente.

Palavras-chave: Controle microbiano. Extratos vegetais. Fungos entomopatogênicos.

ABSTRACT

The prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) is native plant from Mexico, but it is well adapted and distributed in the Brazilian semiarid region and is one of the main species used to feed cattle, goats and sheep, being directly related to life and income source of local people. On the other hand, this culture has been compromised by excessive proliferation of cochineal carmine (*Dactylopius opuntiae*), reaching losses of 100% productivity in some cases. Therefore, the development of methods that control the pest and does not compromise the environment and people are necessary. The microbial control by entomopathogenic fungi and plant extracts have shown to be important in this regard. Thus, this study aimed to evaluate the efficiency of mastruz extract association and isolates of *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) in control of cochineal scale in vitro and in the greenhouse. Compatibility between isolated FIESC 20-b with aqueous extracts and hydroethanol of mastruz through the Biological Index was evaluated. The laboratory bioassays and greenhouse were carried through infested palms with grown adult females after 30 days, the corrected mortality was determined by Abbott's formula (1925) and confirmation of the causative agent was based on fungal growth on insects in Petri dishes. Compatibility between fungi and extracts revealed that the isolated URM6778, URM6779 and URM6782 were selected for bioassay against cochineal combined with the aqueous extract and isolated URM6777, URM6778 and URM6779 were the most suitable for the portion hydroethanol. The best results of the laboratory bioassays were recorded by the 6779 URM isolated and with its combination with aqueous (10%) and hydroethanolic (5%), both for corrected and established mortality. As for the bioassay in greenhouse treatments involving the aqueous extract (10%) and isolated URM6779 together with this extract showed the best results for field studies.

Keywords: Microbial control. Plant extracts. Entomopathogenic fungi.

Lista de abreviaturas

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

Figura 1 – Áreas de 8 x 8 centímetros delimitadas em cada palma, sendo duas repetições em uma face do cladódio e a terceira repetição na face oposta.....	31
---	----

Lista de tabelas

Pág.

Tabela 1 – Diâmetro das colônias, número de esporos/cm ² e porcentagem de esporos viáveis (média), produzidos por isolados de <i>Fusarium incarnatum equiseti</i> (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato aquoso de mastruz.....	35
Tabela 2 – Diâmetro das colônias, número de esporos/cm ² e porcentagem de esporos viáveis (média), produzidos por isolados de <i>Fusarium incarnatum equiseti</i> (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato hidroetanólico de mastruz.....	35
Tabela 3 - Grau de compatibilidade dos isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC 20-b) com o extrato aquoso e hidroetanólico de mastruz, em diferentes concentrações (valor IB, segundo Rossi-Zalaf et al., 2008).....	36
Tabela 4 - Mortalidade total e confirmada (percentual médio) de <i>Dactylopius opuntiae</i> pelo extrato aquoso de mastruz, isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC 20-b) e combinação dos isolados e extrato aquoso de mastruz.....	39
Tabela 5 - Mortalidade total e confirmada (percentual médio) de <i>Dactylopius opuntiae</i> pelo extrato hidroetanólico de mastruz, isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC 20-b) e combinação dos isolados e extrato hidroetanólico de mastruz.....	39
Tabela 6 - Mortalidade corrigida e confirmada (percentual médio) de <i>Dactylopius opuntiae</i> pelos extratos hidroetanólico e aquoso de mastruz, isolados do complexo <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC 20-b) e combinação dos isolados e extratos hidroetanólico e aquoso de mastruz.....	41

SUMÁRIO

Pág.

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1. Palma forrageira (<i>Opuntia fícus indica</i> Mill.).....	15
2.2. Cochonilha do carmim (<i>Dactylopius opuntiae</i>).....	16
2.3. Controle microbiano.....	17
2.4. <i>Fusarium</i> insetícolas.....	20
2.5. Seleção de fungos entomopatogênicos.....	22
2.6. O uso de extratos vegetais no controle de insetos.....	24
2.7. Mastruz (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.).....	25
2.8. Extratos de plantas em associação com fungos entomopatogênicos.....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1. Fungos.....	28
3.2. Obtenção do extrato de mastruz - <i>Chenopodium ambrosioides</i>	28
3.3. Obtenção e manutenção de <i>Dactylopius opuntiae</i> em casa de vegetação.....	29
3.4. Produção e quantificação do inóculo fúngico.....	29
3.5. Efeito do extrato de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre a germinação, o crescimento vegetativo e a esporulação de isolados de <i>Fusarium</i>	29
3.6. Seleção dos isolados e concentrações dos extratos para os bioensaios.....	30
3.7. Avaliação da associação do extrato de mastruz e isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) no controle de <i>Dactylopius opuntiae</i>	30
3.8. Eficiência dos fungos e extratos no controle de <i>Dactylopius opuntiae</i> em casa de vegetação.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1. Efeito do extrato de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre a germinação, o crescimento vegetativo e a esporulação de isolados do Complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>	32
4.2. Avaliação da associação do extrato de mastruz e isolados do Complexo de Espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) no controle da cochonilha do carmim.....	37
4.3. Avaliação da associação do extrato de mastruz e isolados do Complexo de Espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC) no controle da cochonilha do carmim em casa de vegetação.....	40
5. CONCLUSÕES.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* L.) é uma planta exótica da família Cactaceae, nativa do México (Hoffmann, 1995) e se encontra bem distribuída em todos os continentes (Guimarães et al., 2013). No Brasil se apresenta bem difundida na região Nordeste e é considerada uma das principais alternativas de alimento para os animais do semiárido brasileiro (Gava & Lopes, 2012), pois apresenta propriedades fisiológicas nas quais há uma enorme economia de água durante o processo fotossintético e ao seu caule suculento, conhecido como cladódio (Santos, 2006). Além disso, possui uma ampla gama de utilidades, na alimentação humana, medicina, produção de cosméticos, fins agrônômicos, entre outros (Galdino et al., 2010).

Vários insetos acometem a palma forrageira, como gafanhotos, formigas, lagartas, besouros, entre outros (Santos, 2006), porém, a partir do início do século XXI a cultura passou a ser seriamente ameaçada por uma praga conhecida como cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae) (Lopes et al., 2009). Este inseto foi introduzido no final do século XX nos Estados de Pernambuco e Paraíba e vem causando um enorme impacto na produção da palma, principalmente nos Estados de Pernambuco, Paraíba, Alagoas e Ceará (Lopes et al., 2009). A cochonilha é de origem mexicana, possui ciclo de vida em torno de 90 dias e é caracterizada por liberar uma substância avermelhada, conhecida como carmim (ácido carmínico) quando esmagada (Chiacchio, 2008).

O emprego do controle convencional, baseado na aplicação de produtos químicos, é considerado perigoso ao meio ambiente, podendo ocasionar desequilíbrios ambientais em relação à população dos inimigos naturais da praga, bem como o aumento da resistência do inseto-praga aos produtos químicos utilizados. Além disso, pode acarretar a contaminação do solo, água, atmosfera e seres vivos (Brito et al., 2008). Diante disso, faz-se necessária a utilização de alternativas de controle do inseto que não comprometam o meio ambiente, sendo o controle biológico uma dessas alternativas, pois ele não polui, não causa desequilíbrios ecológicos, não é tóxico para o homem e animais e pode ser aplicado com máquinas convencionais (Almeida et al., 2003).

Os fungos são considerados os principais patógenos dos insetos, pois infectam todos os estágios de vida do hospedeiro, penetrando, principalmente, via tegumento.

Dentre os fungos utilizados no controle biológico, destacam-se os dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* (Alves, 1998).

Várias espécies do gênero *Fusarium* são entomopatogênicas e ocorrem em várias ordens de insetos, como Isoptera, Coleoptera e Homoptera, entre outras (Teetor-Barsch & Donald w. Roberts, 1983). Ovos e larvas de *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) foram significativamente reduzidos por *Fusarium lateritium* Nees, (1817), comprovando sua eficácia (Anand & Tiwary, 2009). Isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* se mostraram eficazes no controle da vespa da castanha, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) (Addario e Turchetti, 2011). Outro estudo demonstrou que isolados do complexo de espécies de *Fusarium incarnatum-equiseti*, obtidos de *D. opuntiae*, causaram altos índices de mortalidade sobre o inseto, indicando o fungo como potencial agente de biocontrole (Santos et al., 2015).

Devido a sua grande diversidade de flora, o Brasil possui um enorme potencial na elaboração de compostos secundários que podem ser utilizados como inseticidas. Adicionalmente, os efeitos dos extratos vegetais podem ser vários, interferindo na alimentação, desenvolvimento e reprodução dos insetos (Thomazini et al., 2000). Várias espécies vegetais são relatadas como potenciais bioinseticidas, sendo *Chenopodium ambrosioides* L., conhecida popularmente como mastruz (Tavares & Vendramim, 2005).

O mastruz (*C. ambrosioides*) é uma planta pertencente à família Chenopodiaceae, possui porte herbáceo e é nativa da América tropical, encontrando-se bem distribuída no Brasil, onde recebe vários nomes populares, mastruz, erva-de-santa-maria, chá-do-méxico, erva-formigueira, entre outros (Santos & Correa, 2006). O mastruz é usado na medicina popular e vários estudos comprovaram propriedades importantes da planta, tais como, antibacteriana e fungicida (Barros et al., 2010). Além disso, o mastruz é citado no controle de artrópodes, inibição do crescimento de fungos do solo e de insetos, como a traça-do-tomateiro, *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gielechiidae), e a lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)) (Santos & Correa, 2006). Com isso, estudos são necessários a fim de se aprofundar nas potenciais propriedades do mastruz.

A utilização conjunta de extratos vegetais e fungos entomopatogênicos pode potencializar a eficácia no controle biológico de praga, reduzindo os custos e os impactos ambientais (Marques et al., 2004), como também uma estratégia de gestão mais sustentável (Sahayaraj et al., 2011). Vários trabalhos testando inseticidas naturais em conjunto com

isolados de fungos mostraram-se eficientes no controle de pragas, como na utilização do extrato de nim (Araújo et al., 2009; Marques et al., 2004; Gupta et al., 1999).

Diante dos prejuízos causados pela cochonilha do carmim na palma forrageira, faz-se necessário o estudo de métodos naturais e eficientes visando o seu controle a fim de reduzir os danos causados pelo inseto a essa cultura e pelo uso de inseticidas químicos. O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência da associação de extrato de mastruz e de isolados do complexo de espécies de *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) no controle da cochonilha do carmim *in vitro* e em casa de vegetação.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill.)

A palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill.), cactácea originada nas regiões áridas do México, desempenhou um papel econômico importante na agricultura do Império Asteca (Macêdo, 2014). A partir de 1520 se difundiu a partir do Mediterrâneo (Figueiredo, 2011) e atualmente encontra-se bem distribuída mundialmente (Peixoto, 2004). Sua introdução no Nordeste brasileiro se deu por meio da colonização portuguesa, trazidas das Ilhas Canárias. Inicialmente foram empregadas na produção do carmim (corante natural) e posteriormente passou a ser implantada na ornamentação de parques e jardins até ser usada como forragem (Santos et al., 2006). Sua utilização como forragem se deu em meados da década de 10, logo após, foram plantadas nos Estados do Piauí à Bahia onde se difundiram amplamente (Figueiredo, 2011).

A palma forrageira desempenha papel importante nas regiões semiáridas do Estado de Pernambuco, compreendendo o Agreste e Sertão (Albuquerque & Santos, 2005) onde habitam 8,4 milhões de pessoas e encontra-se a maior área de cultivo, cerca de 500.000 hectares (Lopes, 2005). São usadas na alimentação humana, animal, matriz energética, medicina e produção de cosméticos (Sáenz-Hernández, 2001), composto basicamente por água (90%) e carboidratos (não fibrosos), sendo a principal fonte de energia e de água para os rebanhos, pois são adaptadas a solos poucos férteis, possuem qualidade nutricional e palatabilidade (Barbera et al., 2001), toleram longos períodos de estiagem, além de ser fonte de renda extra para a população local (Oliveira et al., 2010).

A pecuária se consolidou ao longo do tempo como uma atividade vital para o Nordeste do Brasil, contudo a região apresenta um déficit na produção da forragem, devido principalmente as altas temperaturas e irregularidades das chuvas concomitante ao manejo impróprio das forrageiras (Lopes et al., 2010). Por isso, a palma forrageira é considerada um importante alimento para as atividades pecuárias, chegando a alcançar uma produtividade de 40 toneladas por hectare (Santos, 2006).

Ultimamente tem-se observado uma redução significativa na produção de forragem, devido principalmente o ataque de pragas (Vasconcelos et al., 2009). Dentre as pragas, destaca-se a cochonilha do carmim, conhecida nos Estados do Nordeste como “cochonilha

de sangue” (Santos, 2006). A praga tem como característica a rápida disseminação nos cultivares de palma impactando de maneira significativa a sua produção chegando a perdas de 100% em cultivares, causando prejuízos socioeconômicos nas comunidades agrícolas dependentes das atividades bovinas, caprinas, ovinas e leiteiras (Lopes et al., 2009).

2.2. Cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*)

O gênero *Dactylopius* é caracterizado por apresentar insetos pequenos, parasitas e fitófagos, além de viverem como hospedeiros de espécies cactáceas (Flores & Tekelenburg, 2001), produzem uma camada de cera branca onde suas colônias se formam (Falcão, 2012). A cochonilha do carmim, *Dactylopius opuntiae*, é uma espécie de origem mexicana, na qual é conhecida por parasitar a palma forrageira.

Apresenta dimorfismo na espécie, suas fêmeas possuem ciclo biológico com três fases: ovo, ninfa e adulto, quando adultas se tornam ápteras, de formato ovalado, com dimensões de 2,81 mm de comprimento por 1,87 mm de largura, aproximadamente, são marrons-avermelhados em consequência da concentração de ácido carmínico que abrigam. O macho possui cinco fases: ovo, ninfa, prepupa, pupa e adulto que é alado com 2,2 a 4,8 mm de comprimento e 1,3 a 1,5 mm de largura, análogo a dípteros menores de asas longas e delicadas, ao mesmo tempo não desenvolveram aparelho bucal e seu tempo de vida é de aproximadamente quatro dias até que ele possa fecundar novas fêmeas (Longo & Rapisarda, 2001).

Warumby et al. (1998) observaram que o ciclo de vida da cochonilha varia de 35 a 45 dias durante o verão e inverno, respectivamente. Sua oviposição dura cerca de 15 dias e o período que ocorre a disseminação do inseto é de 24 horas, quando as ninfas estão ativas e se disseminam de forma rápida nas palmas sadias através da sucção da seiva, além disso, produzem toxinas que causam o apodrecimento das raquetes, clorose e morte das plantas (Falcão, 2012). Em casos mais graves dizimar grandes áreas cultivadas em consequência da destruição rápida das plantas (Cavalcanti et al., 2001). O clima semiárido do nordeste brasileiro favorece a dispersão e proliferação rápida da cochonilha, pois estimula o seu ciclo reprodutivo aliado ao fato de alimentarem diretamente na palma, sugando sua seiva, comprometendo sua saúde e acarretando no amarelecimento e morte dos cladódios rapidamente (Lopes et al., 2009). Relatam-se casos em que grandes áreas de cultivo são dizimadas devido ao ataque da cochonilha, de modo que os agricultores são obrigados a

extirpar os plantios, afetando significativamente as atividades pecuárias, bovina, caprina e ovina da região (Chiacchio, 2008).

Diversas espécies do gênero *Dactylopius* são produtoras do corante carmim, porém, apenas as fêmeas são utilizadas para extração do ácido carmínico, base para produção do carmim que é considerado um corante de grande qualidade para a indústria usado na confecção de cosméticos, alimentos, remédios, dentre outros além de movimentar mais de US\$ 50 milhões por ano (Falcão, 2012).

Há um risco na disseminação do inseto de maneira descontrolada nas cactáceas, podendo se transformar em praga caso seu cultivo não seja conduzido por pessoas capacitadas ou se forem disseminadas livremente nas plantas sadias (Warumby et al., 2005). Uma vez disseminado, o inseto se desenvolve nos cladódios formando pequenas bolas brancas, que se assemelham ao algodão, sua disseminação ocorre através do vento, do homem e animais. A cochonilha também é responsável pela secreção de uma substância açucarada que é capaz de atrair insetos, principalmente formigas, que são agentes de dispersão de micro-organismos e facilitam a sua proliferação (Almeida et al., 2011). Além disso, foi observado a primeira ocorrência do inseto em áreas de cultivo localizadas em Israel (Spodek et al., 2014), ratificando o grau de disseminação da praga.

2.3. Controle microbiano

Durante as décadas de 50 e 60 o Brasil passou por um processo de modernização da agricultura, gerando novos objetivos e métodos de exploração (Balsan, 2006). O crescente aumento da agricultura moderna vem causando impactos ao meio ambiente devido às formas de produção agrícola, baseadas na monocultura e pesticidas, além de não respeitar as limitações e capacidades do solo, ocasionando a degradação e reduzindo a capacidade produtiva do mesmo (Balsan, 2006). Além disso, esse modelo de agricultura causa a contaminação da água, do homem e dos alimentos, além da redução da biodiversidade (Ehlers, 1999).

Os pesticidas constituem uma ampla gama de produtos químicos utilizados na agricultura e pecuária, visando o controle de pragas (insetos, doenças de plantas, ervas invasoras). Devido a sua eficiência, houve um aumento na demanda objetivando o crescimento da produtividade dos agrossistemas para obtenção de alimentos, contudo, as consequências do seu uso foram por muito tempo negligenciadas sem ter devida relevância

(Vieria et al., 2001). Por outro lado, novas medidas de controle inseto-praga têm sido desenvolvidas, tendo em vista a preservação do ecossistema (Moreira et al., 2005), como o controle biológico, na qual populações de um ecossistema são ajustadas pela ação de seus inimigos naturais (Debach & Rosen, 1991). O emprego do controle biológico melhora a qualidade do produto agrícola, atenua a poluição ao meio ambiente e ajuda na conservação dos recursos naturais, constituindo uma alternativa imprescindível para a sustentabilidade agrícola (Sujii et al., 2002).

A utilização de micro-organismos no controle de insetos praga vem sendo empregado desde a década de 70, em decorrência dos problemas gerados pela utilização dos inseticidas químicos, sendo assim, fungos, bactérias e vírus são usados de maneira eficiente no controle de várias pragas e outros estão em estudo para futuro emprego (Melo & Azevedo, 1998). O uso de micro-organismos no controle biológico apresenta inúmeras vantagens, como, atuam no ecossistema sem causar desequilíbrio, pois, são, específicos, não contaminam água, solo, alimentos, além de que sua produção não é onerosa (Alves, 1998).

Os fungos foram relatados como os primeiros patógenos de insetos no Brasil, Robbs (1962) e Alves (1986) referiram-se ao *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin no controle de *Tomaspis* sp. Bitancourt (1934) observou a existência de fungos entomopatogênicos em pragas citrícolas. Alves (1998) relatou o controle das cigarrinhas-das-pastagens *Deois flavopicta* Stal (Hemiptera: Cercopidae) como um exemplo da utilização prática de fungos entomopatogênicos no controle de pragas. Em Alagoas, no período de 1977 a 1991, Marques (1992) constatou a pulverização de *M. anisopliae* em aproximadamente 670.000 ha de cana infestadas pela cigarrinha-da-folha, *Mahanarva posticata* (Stal). (Hemiptera: Cercopidae), ocorrendo uma redução de aproximadamente 72,0% na ocorrência desta praga. Inicialmente, a área tratada com inseticida químico era de 150.000 ha/ano, diminuindo para 30.000 ha após a aplicação do fungo. Ao contrário das bactérias e vírus entomopatogênicos, os fungos desenvolveram mecanismos de penetração através do tegumento, devido à ação de enzimas em conjunto a pressão mecânica, logo em seguida a penetração ocorre à proliferação na hemocele e produção de toxinas, resultando na morte do hospedeiro (Alves, 1998).

A infecção dos fungos compreende fases sucessivas de germinação, diferenciação, penetração, colonização, reprodução e disseminação (Schrank et al., 1993). A partir do momento que a temperatura e umidade se tornam favoráveis ocorre à formação do tubo

germinativo pelo fungo, em sua extremidade forma-se uma dilatação, o apressório, logo em seguida, em sua porção inferior culminará uma saliência denominada grampo de penetração, na qual penetrará no tegumento do inseto. O mecanismo de penetração está atrelado a um processo físico, pelo qual a hifa rompe áreas membranosas pela pressão exercida, e um químico, resultante da produção de enzimas que promovem a facilitação da pressão mecânica. A hifa penetrante sofre ramificação e engrossamento e em seguida ocupa a cavidade geral, formando-se colônias fúngicas. A morte do inseto ocorre dentre quatro a cinco dias, no momento em que as hifas estão bem desenvolvidas e diversos órgãos estão comprometidos, as hifas envolvem o corpo do hospedeiro, formando um manto de micélio que perpassa toda a superfície do tegumento. Quando as condições se tornam favoráveis, sobrevém a produção de conídios que podem ser disseminados para outros insetos, recomeçando o ciclo (Alves, 1998; Butt et al., 2016; Garcia et al., 2004; Tiago et al., 2011).

Uma das principais vantagens de se utilizar fungos entomopatogênicos é a sua grande variabilidade genética associada ao fato de poderem ser selecionados a partir de bioensaios adequados isolados com alto grau de virulência, visando o controle de pragas. Associado ao fato da capacidade de acometerem todos os estágios de desenvolvimento do inseto (ovo, larva, pupa, adulto) por diversas vias, ao contrário de outros grupos de patógenos que só entram no inseto por meio da via oral (Alves, 1998).

Os fungos entomopatogênicos compreendem cerca de 700 espécies conhecidas, entretanto poucas são utilizadas no controle, como principais destacam-se as do gênero *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria*, *Verticillium*, *Nomuraea*, *Entomophthora* e *Aschersonia* (Finkler, 2012). Em sua maioria, os fungos entomopatogênicos incidem sobre pragas de interesse econômico, desempenhando papel fundamental na regulação da população das mesmas (Alves, 1998). Além de possuírem uma grande variabilidade genética, sendo uma grande vantagem no controle microbiano de insetos, os fungos são considerados também uma alternativa viável para insetos sugadores, dentre os quais se destacam os da ordem Hemiptera, pois o seu modo de infecção ocorre através da cutícula (Dolinsk & Lacey, 2007). Todavia, são necessários maiores conhecimentos dos fatores de virulência que facilitarão a criação de novas maneiras de cultivo, multiplicação e aplicação, a fim de aumentar a taxa de mortalidade concomitante a redução do uso de inseticidas químicos, prejudiciais para os animais e ambiente (Oliveira et al., 2012).

2.4. *Fusarium* insetícolas

Fusarium é caracterizado pela sua ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todos os ambientes, com algumas espécies cosmopolitas e outras restritas a determinadas localidades, predominando em regiões tropicais e subtropicais ou temperadas, ocorrendo também espécies hospedeiras (Alexopoulos et al., 1996). Algumas espécies se associam com animais como aranhas, mamíferos, anfíbios, insetos (Gardiano, et al. 2009), contudo, as espécies do gênero *Fusarium* estão mais relacionadas aos insetos como patógenos, sendo descritos como entomopatógenos fortes ou fracos, que penetram no hospedeiro e debilitam o mesmo por meio das suas toxinas (Teetor-Barsch; Roberts, 1983).

A ocorrência do gênero é descrita em várias ordens de insetos, Hemiptera, Diptera, Orthoptera, Isoptera, Lepidoptera e Coleoptera, porém são encontrados com mais frequência em gafanhotos, cigarrinhas, coccídeos e mosquitos (O'Donnell et al., 2012). *Fusarium oxysporum* Schlecht foi registrado por Golpalakrishnan e Narayan (1989) causando altos índices de mortalidade em *Chloropulvinaria psidii* Maskel (Hemiptera: Coccidae), Pelizza et al. (2011) observaram a presença de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg em *Ronderosia bergi* (Stål) (Orthoptera: Acrididae), enquanto que Lazo (2012) relatou o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* Nirenberg sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae).

Os mecanismos de infecção das espécies de *Fusarium* nos hospedeiros estão relacionados a estruturas vegetativas que penetram na cutícula do hospedeiro que são facilitadas pela presença de feridas naturais ou causadas por algum tipo de parasita ou predador, ocasionando morte rápida devido ao potencial invasivo do mesmo. Alguns representantes do gênero são ectoparasitas, entretanto, os processos que envolvem a invasão sobre as cochonilhas não são totalmente conhecidos, porém, a penetração por meio de tubos germinativos e hifas invadindo a traqueia e as cavidades corporais do inseto é uma possibilidade (Teetor-Barsch; Roberts, 1983).

Alguns isolados de *Fusarium* possuem determinadas características que os colocam como potenciais promissores para o controle biológico, dentre as quais: são altamente específicos e patogênicos em relação ao inseto praga, possuem capacidade de infectar todas as fases de vida do inseto, apresentam grande potencial de sobrevivência no campo devido sua patogenicidade facultativa. Por outro lado, alguns fatores restringem a

utilização do gênero no controle, pois a produção em grande escala de micotoxinas são características de determinadas espécies, outras são responsáveis por causar doenças em plantas e humanos, além da sua complexidade taxonômica (Teetor-Barsch; Roberts, 1983; O'Donnell et al. 2012). Trabalhos demonstraram alta especificidade concomitante a altas taxas de mortalidade de insetos por isolados de *Fusarium* e nenhum dano ao vegetal (Teetor-Barsch; Roberts, 1983; Martins, 2005), enquanto que outros registraram espécies de *Fusarium* como patógenos tanto de humanos como de entomopatogênicos (O'Donnell et al., 2010; 2012).

Historicamente, a identificação do gênero *Fusarium* foi baseada na observação e análise das características morfológicas, macroscópicas e microscópicas, entretanto, a falta de características melhores definidas dificulta a separação de espécies mais próximas taxonomicamente (Geiser et al., 2004). Logo, se torna imprescindível a identificação baseada nas variações das sequências de DNA na busca por classificações mais precisas (Leslie e Summerell, 2006). Santos (2015) constatou por meio de sequências da região TEF-1 α que isolados identificados morfolologicamente como *Fusarium lateritium* foram rearranjados em uma espécie pertencente ao complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), conhecida como FIESC20-b. Dentre as espécies conhecidas do FIESC, apenas três são classificadas por binômios latinos, além disso, o complexo possui várias espécies, no total de 30 conhecidas, das quais 15 foram obtidas a partir de insetos de várias ordens, no entanto, a maioria foi recuperada de insetos da ordem Hemiptera (O'Donnell et al., 2012), ordem cuja cochonilha do carmim está inserida.

Deste modo, para o uso de *Fusarium* no controle de insetos praga faz-se necessário à realização de testes de patogenicidade adequados que auxiliem na elucidação do grau de especificidade dos isolados para o seu hospedeiro (Teetor-Barsch; Roberts, 1983). Métodos que indiquem a virulência do patógeno como a estimativa do impacto nas populações de insetos e os processos de aplicação dos inóculos, suas concentrações e tempo para avaliação são imprescindíveis para a eficiência dos resultados (Teetor-Barsch; Roberts, 1983).

2.5. Seleção de fungos entomopatogênicos

A seleção de isolados de fungos entomopatogênicos consiste na principal etapa para a criação de bioinseticidas, sendo extremamente importante na implantação de um programa de controle biológico de pragas. Esse mecanismo é viável tendo em vista a ampla variabilidade genética desses micro-organismos (Alves, 1998). Determinados parâmetros são empregados na diferenciação e seleção desses isolados, dentre os quais, o crescimento e produção de conídios, além da sensibilidade a produtos químicos e exposição à luz ultravioleta (Frigo & Azevedo, 1986; Feng & Johnson, 1990; Paccola-Meirelles & Azevedo, 1990; Sós-Gomez et al., 1994). Além disso, sua utilização em campo ou estufa é vantajosa no controle microbiano de pragas devido à facilidade de produção em larga escala, viabilizando a utilidade desses controladores por meio de forma inundativa (Alves & Pereira, 1998). Comprovando o sucesso em campo, Hussey e Tinsley (1981) relataram diminuição progressiva dos danos causados pela largarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em uma área de 400.000 ha de milho, que chegavam a 60% antes da aplicação de *Beauveria sp.* e reduziram a 2% após a aplicação do fungo.

Alguns trabalhos relatam a importância da seleção de isolados para o controle de diversas pragas, como para a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae), Zappellini et al. (2010), *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) (Padulla & Alves, 2009), broca gigante da cana de açúcar *Telchin licus* (Drury) (Lepidoptera: Castiniidae) (Figueiredo et al., 2002), *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae) (Almeida et al., 2009), *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Pires et al., 2010), em grãos armazenados (Moino Jr. et al., 1998) e gorgulho aquático do arroz *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima) (Coleoptera: Curculionidae) (Takada, 2002). Testando sete isolados de *M. anisopliae* contra a mosca branca, *Bemisia argentifolii* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), Ramos (2001) obteve uma taxa de mortalidade entre 34 e 90%, selecionando o isolado E9, enquanto que Lopes (1999) relatou uma taxa de mortalidade de 83,3% em ninfas de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) provocada pelo isolado PL 43.

Macedo et al. (2003) avaliaram a patogenicidade de 22 isolados de *M. anisopliae*, obtidos a partir de espécies de cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e cigarrinha da folha, *Mahanarva posticata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), e dois produtos comerciais, Metarril e Biocerto, bioinseticidas comercializados e utilizados no controle de cigarrinhas. Cinco dias após a pulverização foi observado que as taxas de mortalidade corrigida variaram de 20 a 65%, e que os isolados IBCB 348, ESALQ 1285, IBCB 345, IBCB 384 e o produto comercial Metarril foram os mais significativos e promissores para o controle de *M. fimbriolata*.

Loureiro et al. (2012) avaliando o grau de patogenicidade de *M. anisopliae* em campo, observaram que não houve diferença entre os isolados testados quanto a capacidade de controlar populações naturais de *M. fimbriolata*. Miranda et al. (2004) obtiveram resultados satisfatórios com *M. anisopliae* no controle de *M. fimbriolata* em condição de temperatura mais amena ($\pm 24,06$ °C), ressaltando a importância desse fator para condução de experimentos em campo. Batista-Filho et al. (2002) estudando o mesmo fungo para a mesma praga em uma companhia energética no Estado de São Paulo revelaram os isolados IBCB 10 e ESALQ 1037 de *M. anisopliae* como promissores no controle de *M. fimbriolata*. Em condições naturais *Trichoderma* sp. causou 78% de mortalidade em percevejo de renda *Leptopharsa heveae* (Drake & Poor) (Heteroptera: Tingidae), e os fungos *M. anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) A.H.S. Br. & G. Sm. *Isaria fumosorosea* (Wize), *Sporothrix insectorum* (Hoog & Evans), *B. bassiana* e *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas Sm. *Lecanicillium lecanii* (Zimm) Zare & W. Gams., foram os mais promissores para o controle do percevejo de renda (Tanzini, 2002).

Através de estudos e trabalhos é possível obter isolados potenciais para serem usados com sucesso em programas de controle biológico de insetos praga, sendo imprescindível a averiguação do mecanismo de penetração dos fungos no hospedeiro invertebrado, pois ela está relacionada diretamente com a formulação do fungo entomopatogênico a ser utilizada no campo, para torná-la adequada às necessidades do mesmo, a fim de promover a infecção dos vários estágios do inseto no meio ambiente (Bittencourt et al., 1999).

2.6. O uso de extratos vegetais no controle de insetos

Data-se por volta de 2000 A.C na Índia, o início da utilização de plantas como inseticidas no controle de pragas, seu uso se tornou contínuo ao longo do tempo e no século XVI os europeus já utilizavam uma ampla gama de vegetais para o controle (Moreira et al., 2005). Todavia, com o fim da 2ª Guerra Mundial e desenvolvimento industrial, os inseticidas sintéticos ganharam espaço, reduzindo o emprego dos bioinseticidas na agricultura (Thacker, 2002). Por outro lado, com o aumento da resistência dos insetos aos inseticidas sintéticos, a volta de pragas erradicadas e as consequências danosas desses pesticidas sobre os inimigos naturais, meio ambiente e o homem, além do crescimento recente da agricultura orgânica, cresceu o interesse pelo uso dos bioinseticidas (Moreira et al., 2005). A crescente demanda por produtos de qualidade sem agrotóxicos vem exigindo a busca por substâncias que não coloquem em risco a saúde humana e ao meio ambiente, porém, o aumento do custo da síntese de novos produtos tem dificultado a descoberta de novos compostos com ação inseticida (Menezes, 2005).

Designa-se produto natural como metabólitos de plantas ou animais, tais compostos são gerados a partir do metabolismo secundário (Mann, 1995). Tudo indica que eles não são essenciais para o organismo sintetizador, estando relacionados com estratégias defensivas das plantas (Hochuli, 2001). Podem ser usados como medicamentos, no controle de pragas, de maneira direta ou indireta (Arnason et al., 1990) e seus efeitos sobre os insetos variam, sendo tóxicos, repelentes, inibindo a oviposição e alimentação, interferindo no sistema hormonal, alterando o comportamento e o desenvolvimento dos mesmos causando a morte, pois possuem grande concentração de substâncias bioativas (Bell et al., 1990). Contudo, a morte dos insetos não deve ser sempre o objetivo principal da utilização dos inseticidas botânicos, pois é necessária uma grande concentração do produto, dificultando a técnica pela grande quantidade do material. Sendo o mais adequado, reduzir, impedir a alimentação e oviposição, que acarretará no declínio populacional da praga (Costa et al., 2004).

Cloyde (2004) relatou inúmeras vantagens de se utilizar os vegetais como inseticidas. Sendo eles de rápida degradação, persistindo menos no ambiente, possuem baixa toxicidade, se apresentam eficiente no controle de vários insetos praga, são seletivos, de baixo custo, fácil alcance para os agricultores e mostram-se com baixo teor de fitotoxicidade, além disso, podem ser confeccionados a partir do produto bruto em pó ou a

partir de soluções aquosas ou alcoólicas. Por outro lado alguns inseticidas botânicos são considerados tóxicos a alguns animais, reforçando a realização de testes de toxicidade para essas substâncias (Moreira et al., 2005).

Alguns dos inseticidas botânicos começaram a ser comercializados a partir da criação de seus produtos, o óleo de nim extraído a partir de sua semente que contém diversos compostos com atividade biológica, a piretrina obtida das sementes ou flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* e *Chrysanthemum cinereum* e a rotenona, encontrada em leguminosas tropicais, são exemplos (Brunherotto & Vendramim, 2001; Reigart & Roberts, 1999). Segundo Amaral et al. (1999) as plantas de regiões semiáridas e tropicais são ricas em substâncias com ação inseticidas. Dentre as principais, destaca-se: saboneteira (*Sapindus saponaria* L.) que controla piolho (*Pediculus capitis*) (De Geer) (Phthiraptera: Pediculidae), esporinha (*Delphinium ajacis* L.), contra larvas de gafanhotos (*Rhammatocerus schistocercoides*) (Rehn) (Orthoptera: Acrididae), cravo-de-defunto (*Tagetes minuta* L.), que é nematicida e repelente de pulgões (Marangoni et al., 2012), nim contra a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera, Noctuidae) (Viana & Prates, 2003; Trindade et al., 2000) e eucalipto *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) sobre *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (Freitas, 2008). Lorenzi e Matos (2002) relataram propriedades antifúngica e antibacteriana em *Ginkgo biloba* L. Zeni et al. (2004) observaram atividade antifúngica do extrato de *C. citriodora*, assim como Duarte et al. (2004), que registraram o potencial antifúngico do extrato alcoólico de *Eucalyptus globulus*.

Apesar do grande número de plantas registradas com atividade inseticida ainda é pequena a quantidade de produtos disponíveis para serem comercializados. A falta de pesquisas, a dificuldade para registrar, a necessidade do controle de qualidade, concomitantes a dificuldade para obtenção dos princípios ativos, são empecilhos na confecção desses produtos, ressaltando a importância de novos estudos na área (Costa et al., 2004).

2.7. Mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.)

O mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.), originário do México, pertencente à família Chenopodiaceae, é uma planta herbácea, se encontra bem distribuída mundialmente

bem como no Brasil, vegetando principalmente em solos férteis, jardins, hortas, roças. Além de mastruz, essa planta é conhecida também como, erva de santa maria, mastruço, ambrosia, erva-formigueira e erva-mata-pulgas (Cruz, 1995). É perene ou anual, com crescimento anual e cerca de 40 a 80 centímetros de comprimento (Monteiro, 2012), se reproduz por meio de sementes que podem chegar a milhares no período reprodutivo, se desenvolve em solos de boa fertilidade, supressão moderada de água, tolerando solos salinos. Seu crescimento vegetativo é favorecido por dias longos e seu florescimento por dias curtos (Kismann, 1991).

Suas propriedades biológicas se encontram bem difundidas em relação ao tratamento de doenças para o homem, constituindo-se como um bom febrífugo, tônico, cicatrizante, antirreumático, antimicrobiano, fungicida, vermífugo (Sérvio et al., 2011), sendo o ascaridol seu principal componente ativo. Além de ser citada como inseticida doméstico para pulgas e percevejos (Vieira, 1992), assim como, para pragas de grãos armazenados (Rodríguez, 2000). Su (1991) constatou que a aplicação do óleo de *C. ambrosioides* ocasionou grandes taxas de mortalidade sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae) chegando a valores de 100%. Resultados positivos também foram observados por Procópio & Vendraim (1995), obtendo uma mortalidade total de adultos do gorgulho do milho em apenas dois dias, os mesmos autores relataram dois anos mais tarde que em apenas um dia, todos os adultos de caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) foram mortos (Procópio & Vendraim, 1997). Analisando pulgão preto *Toxoptera citricida* Kirk. (Hemiptera: Aphididae) em citros Silva (2009) obteve resultados satisfatórios na mortalidade do inseto com o extrato aquoso do mastruz. Novo et al. (1997) concluíram a atividade repelente do mastruço para o *Tribolium Castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae).

Os compostos químicos que possuem atividades inseticidas, presentes nos vegetais desempenham um papel fundamental principalmente no controle de pragas como uma fonte alternativa de controle, logo, pesquisas detalhadas para identificação desses compostos, bem como a realização de exames de toxinas, são imprescindíveis para evitar problemas para o homem (Parra-Vergara, 1998). Esses estudos auxiliam também na identificação de novas plantas com potenciais inseticidas, como também na confecção e síntese de novos produtos.

2.8. Extratos de plantas em associação com fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos desempenham papel importante no controle de pragas, podendo ser usados de maneira isolada ou conjunto com outras técnicas (Marques et al., 2004). São inúmeras as propriedades antimicrobianas, inseticidas, fungicidas e herbicidas dos produtos biológicos de origem vegetal (Marques et al., 2004). Alves et al. (1998), observaram a influência dos produtos vegetais na viabilidade, crescimento vegetativo e esporulação dos fungos, modificando sua eficiência no controle, destacando a importância da utilização conjunta dos fungos com extratos vegetais.

Pramilla et al. (1999) relataram que produtos comerciais a base de nim se comportaram como inibitórios ou estimulantes no crescimento de *B. bassiana*. Landa e Bohata (1999) não verificaram efeito negativo na viabilidade e crescimento de *P. fumosoroseus* (Sm. *I. fumosorosea*) com dois inseticidas de nim. Já Marques et al. (2004), descreveram o óleo de nim como estimulantes do crescimento e esporulação de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces farinosus* (Holmsk.) Brown & Smith Sm. *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr., enquanto que não afetou a viabilidade dos mesmos. Santos e Lima (2011) observaram uma diminuição do crescimento vegetativo que o óleo de nim provocou em culturas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, por outro lado, não interferiram na esporulação e viabilidade dos conídios. Nana et al. (2012) constaram a compatibilidade de *M. anisopliae* com o extrato de *Calpurnia aurea* Benth. com todas as concentrações estudadas.

Quando testados de maneira separada e em conjunto Mohan et al. (2007) observaram que *B. bassiana* em associação com óleo de nim apresentou um efeito sinérgico e mais satisfatório sobre *Spodoptera litura*. Gomes (2012) também retrataram um efeito positivo do uso combinado de *M. anisopliae* e óleo de nim sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae), o mesmo foi visto por Rosales (2001) no controle de *Heterotermes tenuis* (Hagen) (Isoptera: Rhinotermitidae). *B. bassiana* apresentou taxa de mortalidade menor sobre *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) e *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae) quando testado isoladamente do que quando testado com conjunto com azadirachtin, a mesma resposta foi retratado por Islam et al. (2010) em ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae).

Vários trabalhos comprovaram a eficácia e viabilidade da utilização conjunta de fungos entomopatogênicos e extratos vegetais (Leite et al., 1995; Pramila et al., 1999;

Nankinga et al., 2000; Consolo et al., 2003), fazendo com que o controle biológico seja mais dinâmico no combate aos insetos praga. Além da possível ocorrência de sinergismo entre ambos, o que acarretará na redução de gastos e impacto sobre o ambiente (Marques et al., 2004), entretanto, os estudos nesse sentido ainda são escassos, reforçando a importância de investimentos na área de pesquisa.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Fungos

Foram utilizados cinco isolados do complexo de espécies *F. incarnatum-equiseti* (FIESC 20-b) preliminarmente selecionados (Tiago et al., 2012) como potenciais agentes de controle biológico de *D. opuntiae*, obtidos a partir de adultos de *D. opuntiae*, coletados em diferentes municípios de Pernambuco. Os fungos foram depositados na Micoteca URM com os seguintes números de acesso: URM6776 (Sertânia), URM6777 (Sertânia), URM6778 (Tuparetama), URM6779 (Ibimirim) e URM6782 (Arcoverde).

3.2. Obtenção do extrato de mastruz - *Chenopodium ambrosioides*

Para obtenção do extrato de mastruz, plantas foram coletadas no Assentamento Chico Mendes III localizado nos municípios de São Lourenço da Mata e Paudalho, Pernambuco e na PERPART – Pernambuco Participações e Investimentos e levadas para o Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), onde foram secas em estufa a 60°C por 12 horas, em seguida foram trituradas para confecção dos extratos.

A solução aquosa foi confeccionada a partir do material triturado na qual ficou em suspensão de água destilada na concentração de 30% por 48 horas e posterior filtração. Para a solução hidroetanólica, o material triturado foi suspenso em etanol 70% na concentração de 30%, na qual permaneceu em repouso por duas horas seguido de filtração. O etanol foi evaporado em banho-maria à temperatura de 45°C por 16 horas e o volume inicial foi completado com água.

As soluções foram esterilizadas a vapor fluente por 15 minutos. Em seguida, cada extrato foi adicionado ao meio Batata Dextrose Ágar (BDA) (45°C) nas concentrações de 5%, 10% e 20%.

3.3. Obtenção e manutenção de *Dactylopius opuntiae* em casa de vegetação

Dactylopius opuntiae foram obtidos a partir de cladódios de palmas coletadas no interior de Estado e mantidos em palma à temperatura ambiente em casa de vegetação do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA). Os cladódios foram trazidos sadios e contaminados a partir do contato com palmas já infestadas de cochinha pertencentes a uma criação, as colônias após trinta dias crescidas foram utilizadas para realização dos bioensaios.

3.4. Produção e quantificação do inóculo fúngico

Os isolados do complexo de espécies *F. incarnatum-equiseti* foram cultivados em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e incubados durante sete dias, em BOD (26 ± 1°C), visando o crescimento vegetativo e a esporulação. Em seguida, os conídios foram contados em câmara de Neubauer para a obtenção de uma suspensão padrão de 1 x 10⁷ conídios/mL, conforme a metodologia utilizada por Alves & Moraes (1998).

3.5. Efeito do extrato de *Chenopodium ambrosioides* sobre a germinação, o crescimento vegetativo e a esporulação de isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum equiseti* (FIESC)

O crescimento vegetativo, taxa de germinação e a esporulação dos isolados do FIESC 20-b foram avaliados em meio BDA acrescido de extrato de mastruz aquoso e hidroalcoólico (5%, 10% e 20%) e em meio BDA (controle).

Para a determinação da taxa de germinação, suspensões de 10⁷ conídios/ml permaneceram em contato com as concentrações dos extratos e com água destilada esterilizada durante o período de três horas, em seguida 50 µl das suspensões de conídios foram semeadas no meio de cultura e após 14 horas de incubação foi realizada a contagem de 200 conídios por repetição, verificando os germinados e os não germinados, em

microscópio óptico para obtenção da porcentagem de germinação. O crescimento vegetativo foi avaliado a partir de discos de 0,12 cm² da colônia fúngica que foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo BDA e BDA acrescido das concentrações 5%, 10% e 20% de cada extrato (aquoso e hidroetanólico). Sete dias após incubação a 28°C, foram medidos os diâmetros das colônias. A produção de conídios foi determinada a partir da retirada de blocos cilíndricos das colônias fúngicas e transferência para tubos de ensaio com 5 ml de Tween 80 (0,01%) para contagem do número de conídios em câmara de Neubauer (Alves, 1998).

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

3.6. Seleção dos isolados e concentrações dos extratos para os bioensaios

A seleção de isolados e concentração de cada extrato para serem testados foi baseada no Índice Biológico (IB) (Rossi-Zalaf et al., 2008) a fim de verificar o grau de compatibilidade entre os fungos e os extratos. Os valores médios de esporulação, crescimento vegetativo e germinação foram determinados com relação ao controle, para cada tratamento foi aplicada a fórmula: $IB = [47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GERM)] / 100$. Em que, tóxico de 0 a 41, moderadamente tóxico de 42 a 66 e compatível > 66.

3.7. Avaliação da associação do extrato de mastruz e isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum equiseti* (FIESC) no controle de *Dactylopius opuntiae*

Palmas infestadas com fêmeas adultas crescidas 30 dias aproximadamente foram pulverizadas inicialmente com detergente neutro (2%), para redução da quantidade de cera na superfície das cochonilhas. Após três horas, estas palmas foram pulverizadas de maneira uniforme com quatro ml da suspensão de conídios dos fungos + extrato vegetal (aquoso

e/ou hidroetanólico) na concentração compatível com o fungo, utilizando-se pulverizador manual. Em cada ensaio, os extratos vegetais e os isolados do FIESC 20-b foram testados individualmente. No tratamento controle, os insetos foram pulverizados com água destilada esterilizada, mais Tween 80 (0,01%). Após a aplicação, as palmas foram mantidas em sala climatizada a $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A avaliação da mortalidade foi realizada 10 dias após a aplicação dos fungos e/ou extratos e para isso foram delimitadas três áreas de 8 x 8 cm (lado) em cada palma (Figura 1), sendo avaliados 50 insetos por área, totalizando 150 insetos para cada isolado e extrato estudado.

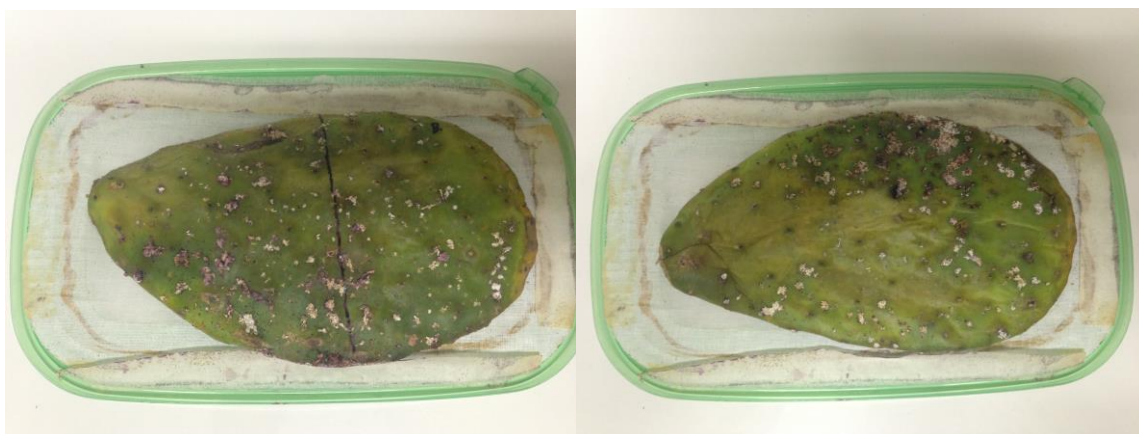


Figura 1. Áreas de 8 x 8 centímetros delimitadas em cada palma, sendo duas repetições em uma face do cladódio e a terceira repetição na face oposta.

Para a confirmação da mortalidade para cada isolado fúngico, os insetos mortos foram desinfestados em álcool 70%, solução de hipoclorito de sódio 4% e em água destilada esterilizada e, em seguida, transferidos para placas de Petri contendo meio BDA + cloranfenicol (0,05%) e mantidos a $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para confirmação do agente causal. A avaliação dos tratamentos utilizando os extratos vegetais foi realizada com base no número de insetos mortos e vivos.

Os dados de mortalidade total foram analisados para calcular a mortalidade corrigida através da fórmula de Abbott (1925), na qual, a porcentagem de eficiência no tratamento = $(\text{número de insetos vivos no controle} - \text{número de insetos vivos no tratamento}) / \text{número de insetos vivos no controle} \times 100$.

O delineamento foi inteiramente casualizado, totalizando oito tratamentos, com três repetições. Para a análise estatística foi utilizado à análise de variância e para comparação das médias o Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Assistat 7.5.

3.8. Eficiência dos fungos e extratos no controle de *Dactylopius opuntiae* em casa de vegetação

Para avaliação da eficiência dos fungos e extratos no controle da cochonilha do carmim em casa de vegetação foi realizada a metodologia semelhante citada no item 3.6 do presente trabalho. Os tratamentos foram selecionados a partir dos testes de patogenicidade realizados em laboratório.

O delineamento foi inteiramente casualizado, totalizando seis tratamentos, com três repetições. Para a análise estatística foi utilizado à análise de variância e para comparação das médias o Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Assistat 7.5.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito do extrato de *Chenopodium ambrosioides* sobre a germinação, o crescimento vegetativo e a esporulação de isolados do Complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti*

Foi observado que o extrato aquoso de mastruz nas concentrações de 5, 10 e 20%, não interferiu no crescimento vegetativo dos isolados do FIESC 20-b, a única exceção ocorreu para o isolado URM6778 na concentração 5% que diferiu do controle (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Landa & Bohata (1999) analisando o crescimento de *P. fumosoroseus* (Sm. *I. fumosorosea*) e sua compatibilidade com dois inseticidas a base de nim. As concentrações de 10% e 20% do extrato aquoso de matruz estimularam a produção de conídios do isolado URM6776, o mesmo foi observado para o URM6778 na concentração de 10%%. O aumento da produção de conídios pode ter ocorrido devido a algum componente do vegetal que em determinada quantidade foi metabolizado como nutriente pelo fungo (Tamai et al., 2002). Além disso, vale ressaltar que o estímulo na produção de esporos pelo extrato é um fator importante no controle microbiano que implicará na virulência do patógeno e que está sendo potencializada pelo extrato, como foi observado por Santos (2015) utilizando o extrato de mamona. O extrato de mastruz a 20% inibiu a produção de conídios do isolado URM6777 (Tabela 1). A viabilidade dos conídios não foi afetada pelas diferentes concentrações do extrato para a maioria dos isolados, exceção ocorreu para URM6777 nas concentrações de 5, 10 e 20% e também para URM6779 na concentração de 20% (Tabela 1), o mesmo foi observado por

Marques et al. (2004) para diferentes concentrações de óleo de nim em relação a *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *P. fumosoroseus* (Sm. *I. fumosorosea*), assim como, por Gupta et al. (2002) para *M. anisopliae* e *B. bassiana*. A viabilidade dos conídios dos fungos entomopatogênicos é considerada um dos fatores que mais se deve levar em consideração na compatibilidade dos fungos com os extratos, pois a partir da germinação, o fungo penetrará na cutícula do inseto e causará a morte (Hirose et al. 2001; Neves et al. 2001). Além disso, este resultado é imprescindível no que diz respeito ao uso associado dos fungos e o extrato de mastruz, pois mostra o potencial da utilização em associação sem haver interferência negativa do extrato na germinação dos conídios (Marques et al., 2004).

Para o extrato hidroetanólico de mastruz foi observado que as concentrações de 10 e 20% causaram uma diminuição no crescimento vegetativo do isolado URM6776 e o mesmo foi observado para o isolado URM6779 na concentração de 20% (Tabela 2). O óleo de nim reduziu o crescimento dos fungos *Beauveria bassiana* e *Paecilomyces farinosus* (Sm. *I. farinosa*) (Marques et al., 2004). O contrário foi observado para URM6777 que teve o crescimento vegetativo maior na presença do extrato 5%, de maneira similar a Quintela (2002) que registraram um acréscimo no crescimento vegetativo de *Beauveria bassiana* após cultivo em óleo de nim na concentração de 0,25%. Foi observada uma influência positiva do extrato de mastruz na produção de conídios do isolado URM6779 na concentração de 20% e do isolado URM6782 na concentração de 5%. O extrato 5% e 20% reduziu a produção de conídios do URM6777 (Tabela 2). A viabilidade dos conídios não diferiu para a maioria dos isolados, exceto para o isolado URM6776 em que a presença do extrato nas concentrações de 10 e 20% estimulou a taxa de germinação dos conídios. O mesmo foi observado para URM6777 na presença do extrato a 10% (Tabela 2). Respostas que inibiram, estimularam ou não interferiram no desenvolvimento de fungos entomopatogênicos foram registradas em estudos utilizando herbicidas, (Costa et al., 2004; Lehner et al., 2014), fungicidas (Loureiro et al., 2002), inseticidas (Botelho & Monteiro, 2010; Andaló et al., 2004; Tamai et al., 2002) e poucos em extratos vegetais (Santos et al., 2015), entretanto, trabalhos que objetivam analisar o efeito dos extratos vegetais sobre os fungos ainda são insuficientes na literatura, ressaltando a importância e necessidade de estudos nesse sentido.

Para os valores de IB, foi observado uma compatibilidade entre os fungos e o extrato aquoso, exceto para o isolado URM6777 na concentração de 20% que foi moderadamente tóxico para o fungo (Tabela 3). Em relação ao extrato hidroetanólico

verificou-se a incompatibilidade do isolado URM6782 com as diferentes concentrações estudadas, também foi registrado que apenas o isolado URM6779 foi compatível, os demais apresentaram ao menos um nível de concentração incompatível (Tabela 3). O grau de compatibilidade entre os isolados do FIESC 20-b e os extratos de mastruz variou de acordo com o tipo de extrato usado, sendo o extrato aquoso mais compatível, pois dentre os 15 tratamentos, 14 foram compatíveis, enquanto para o extrato hidroetanólico apenas sete.

A seleção dos isolados para realização dos testes de patogenicidade contra a cochonilha do carmim foi baseada nos maiores valores de IB, logo, os isolados URM6778, URM6779 e URM6782 foram os selecionados para serem testados em combinação com o extrato aquoso 10% e os isolados URM6777, URM6778 e URM6779 foram os mais indicados para o extrato hidroetanólico 5%.

Tabela 1. Diâmetro das colônias, número de esporos e porcentagem de esporos viáveis (média), produzidos por isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato aquoso de mastruz.

	Diâmetro da colônia (cm) CV = 10,60				*Número de esporos ($n \times 10^7/\text{cm}^2$) CV = 42,47				Viabilidade dos esporos (%) CV = 9,48			
Isolados	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%
URM 6776	4,11 bA	5,00 bA	4,55 cA	3,91 bA	18,05 cB	56,24 aAB	69,64 abA	74,10 aA	97,50 aA	86,50 aA	87,75 abA	98,50 aA
URM 6777	7,33 aA	6,91 aA	6,77 bA	7,01 aA	71,42 abA	40,97 aAB	59,52 abAB	18,94 bB	50,87 bA	15,25 bB	18,12 cB	21,03 bB
URM 6778	7,81 aA	6,00 abB	8,06 abA	8,08 aA	37,20 bcB	67,35 aAB	80,35 aA	70,03 aAB	98,32 aA	97,32 aA	100,00 aA	95,50 aA
URM 6779	8,06 aA	7,16 aA	8,48 aA	7,80 aA	52,87 abcA	76,68 aA	35,41 bA	62,19 aA	94,75 aA	94,75 aA	85,00 bA	23,62 bB
URM 6782	7,45 aAB	6,85 aB	8,53 aA	6,86 aB	83,02 aA	76,17 aA	69,43 abA	74,99 aA	95,75 aA	95,00 aA	93,87 abA	94,62 aA

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

* Foi aplicado o teste de comparação de médias t.

Tabela 2. Diâmetro das colônias, número de esporos e porcentagem de esporos viáveis (média), produzidos por isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) em meio BDA + diferentes concentrações do extrato hidroetanólico de mastruz.

	Diâmetro da colônia (cm) CV = 10,92				*Número de esporos ($n \times 10^7/\text{cm}^2$) CV = 29,94				Viabilidade dos esporos (%) CV = 4,63			
Isolados	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%
URM 6776	5,20 bA	4,15 bAB	3,56 bB	3,16 bB	40,63 abA	39,28 bA	64,36 aA	18,76 bA	57,66 bC	72,25 bB	90,16 bA	88,60 aA
URM 6777	6,33 abB	8,20 aA	6,93 aAB	6,65 aAB	90,83 aA	31,7 bB	39,04 aAB	22,45 bB	93,32 aAB	89,62 aB	100,00 aA	91,87 aB
URM 6778	8,01 aAB	8,35 aA	7,56 aAB	6,66 aB	80,11 aA	83,92 abA	55,88 aA	64,24 bA	92,87 aA	97,00 aA	92,37 abA	95,12 aA
URM 6779	7,91 aA	8,11 aA	8,50 aA	5,95 aB	118,01 aB	116,14 aB	92,85 aB	257,93 aA	89,87 aA	93,87 aA	97,00 abA	96,62 aA
URM 6782	6,41 abA	7,85 aA	7,41 aA	6,98 aA	20,51 bB	80,15 abA	58,2 aAB	54,24 bAB	91,50 aA	97,87 aA	99,00 aA	97,00 aA

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

* Foi aplicado o teste de comparação de médias t, os dados transformados em $x = \sqrt{x}$.

Tabela 3. Grau de compatibilidade dos isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC 20-b) com o extrato aquoso e hidroetanólico de mastruz, em diferentes concentrações (valor IB, segundo Rossi-Zalaf et al., 2008).

Isolado	% extrato	Extrato aquoso de mastruz Valor IB	Classificação	Isolado	% extrato	Extrato hidroetanólico de mastruz Valor IB	Classificação
URM 6776	0%	100		URM 6776	0%	100	
	5%	77,24	Compatível		5%	61,53	Moderadamente tóxico
	10%	83,73	Compatível		10%	71,44	Compatível
	20%	83,57	Compatível		20%	43,46	Moderadamente tóxico
URM 6777	0%	100		URM 6777	0%	100	
	5%	83,6	Compatível		5%	74,88	Compatível
	10%	103,69	Compatível		10%	68,51	Compatível
	20%	60,11	Moderadamente tóxico		20%	61,33	Moderadamente tóxico
URM 6778	0%	100		URM 6778	0%	100	
	5%	82,2	Compatível		5%	74,26	Compatível
	10%	102,26	Compatível		10%	61,79	Moderadamente tóxico
	20%	96,13	Compatível		20%	58,88	Moderadamente tóxico
URM 6779	0%	100		URM 6779	0%	100	
	5%	77,47	Compatível		5%	86,85	Compatível
	10%	79,48	Compatível		10%	81,91	Compatível
	20%	73,61	Compatível		20%	119,81	Compatível
URM 6782	0%	100		URM 6782	0%	100	
	5%	79,18	Compatível		5%	59,37	Moderadamente tóxico
	10%	84,8	Compatível		10%	54,2	Moderadamente tóxico
	20%	78,65	Compatível		20%	47,76	Moderadamente tóxico

4.2. Avaliação da associação do extrato de mastruz e isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) no controle da cochonilha do carmim

A mortalidade corrigida da cochonilha do carmim utilizando os isolados em combinação com o extrato aquoso de mastruz a 10% variou de 13,23 a 51,64, sendo estas as diferenças encontradas entre os tratamentos envolvendo os isolados URM6782 e URM6779 com o extrato, respectivamente (Tabela 4). Não foi observada diferença entre os demais tratamentos estudados, demonstrando que a combinação dos fungos com o extrato aquoso não potencializou o efeito de mortalidade da cochonilha do carmim. Em trabalho desenvolvido com extratos de citronela (*Cymbopogon nardus*) (Poaceae) (1%, 5% e 10%), cúrcuma (*Curcuma longa*) (Zingiberaceae) (1%) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) (1%, 5%, 10% e 15%) foi observado que os extratos não interferiram na patogenicidade de *B. bassiana* em comparação à aplicação apenas do fungo (Mertz et al., 2010). Resultados semelhantes foram registrados por Ferreira (2011) com óleo de nim e *B. bassiana*. A utilização do extrato de mastruz foi tão eficiente quanto o seu uso com os fungos, Tavares e Vendramim (2005) obtiveram uma taxa de mortalidade de 37% utilizando o pó de mastruz contra *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae). Verificando a eficácia do extrato hidroalcoólico de mastruz, Almeida et al. (2011) relataram uma taxa de mortalidade de 100% sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleoptera: Bruchidae).

Em relação à mortalidade confirmada não foi verificado crescimento fúngico no teste controle, demonstrando ausência de contaminação prévia dos insetos testados. O isolado URM6779 e sua associação ao extrato se sobressaíram e apresentaram as maiores taxas de mortalidade confirmada da cochonilha do carmim, 55,33 e 36,66 respectivamente. Registrando mais uma vez a eficácia dos isolados do FIESC 20-b em associação e separadamente ao extrato a 10%. Valores mais elevados de mortalidade poderiam ser obtidos, contudo, a cochonilha do carmim produz grande quantidade de cera que dificulta a penetração dos fungos na cutícula dos insetos, essa cera é constituída por substâncias gordurosas e cerosas que exercem o papel de barreira (Santos, 2015).

O teste de patogenicidade envolvendo o extrato hidroetanólico de mastruz a 5% registrou os maiores valores de mortalidade corrigida para o isolado URM6779 sem (71,92%) e com (72,73%) a combinação com o extrato, sendo ambos os tratamentos iguais somente ao isolado URM6778 (46,51%) (Tabela 6). Assim como foi observado no

primeiro bioensaio, o isolado URM6779 foi tão eficiente quanto o mesmo combinado com extrato. Brito (2011) relatou a patogenicidade de dois isolados de *B. bassiana* com valores de 52% e 48% contra adultos de *D. opuntiae*, enquanto que Majumbar et al. (2008) analisando *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. obtiveram uma mortalidade confirmada de 80% contra pupas de *Tetanops myopaeformis* (von Röder) (Diptera: Ulidiidae). Golpalakrishnan e Narayan (1989) constataram a mortalidade de *Chloropulvinaria psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) por *F. oxysporum* variando conforme o aumento da concentração da suspensão de conídios, chegando a 100% com uma suspensão de $4,8 \times 10^8$ conídios/ml. Lazo (2012) observou uma taxa de mortalidade de 100% sobre o percevejo-bronzeado do eucalipto (Hemiptera: Thaumastocoridae) após o sexto dia de aplicação de *Fusarium proliferatum*. Dois isolados do FIESC causaram altas taxas de mortalidade (60-70%) na vespa da castanha *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu) (Hymenoptera: Cynipidae) (Addario e Turchetti. 2011) e um isolado do mesmo fungo foi responsável pela morte de 83% de fêmeas adultas de um inseto praga de pinheiros chineses (Liu et al., 2014), Santos et al. (2015) testando isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* obteve uma taxa de mortalidade confirmada de 100% contra a cochonilha do carmim. Para a mortalidade confirmada, não ocorreram diferenças entre o extrato vegetal combinado com os isolados URM6778 (24%) e URM6779 (51,30) e URM6778 (47,76).

A partir dos resultados obtidos para a mortalidade confirmada, foi selecionado o isolado URM6779 e o mesmo acrescido das concentrações 10% para o extrato aquoso e 5% para o extrato hidroetanólico para a realização dos bioensaios em casa de vegetação.

Tabela 4. Mortalidade corrigida e confirmada (percentual médio) de *Dactylopius opuntiae* pelo extrato aquoso de mastruz, isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC 20-b) e combinação dos isolados e extrato aquoso de mastruz.

Tratamentos	Mortalidade	
	Corrigida	Confirmada
Controle		0,00 d
Extrato aquoso de mastruz a 10%	24,41 abcd	-
Isolado URM 6778	30,28 abc	7,33 cd
Isolado URM 6778 + Extrato de mastruz a 10%	31,05 abc	17,33 bc
Isolado URM 6779	46,71 ab	55,33 a
Isolado URM 6779 + Extrato de mastruz a 10%	51,64 a	36,66 ab
Isolado URM 6782	22,32 bcd	12,66 bc
Isolado URM 6782 + Extrato de mastruz a 10%	13,23 cd	2,66 cd
CV (%)	36,76	32,86

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os dados referentes a mortalidade confirmada foram transformados em $x=\sqrt{x}$.

Tabela 5. Mortalidade corrigida e confirmada (percentual médio) de *Dactylopius opuntiae* pelo extrato hidroetanólico de mastruz, isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC 20-b) e combinação dos isolados e extrato hidroetanólico de mastruz.

Tratamentos	Mortalidade	
	Corrigida	Confirmada
Controle		0,00 c
Extrato hidroetanólico de mastruz a 5%	17,49 cb	-
Isolado URM 6777	25,31 bcd	6,66 c
Isolado URM 6777 + Extrato de mastruz a 5%	28,85 bc	14,66 c
Isolado URM 6778	46,51 ab	47,76 ab
Isolado URM 6778 + Extrato de mastruz a 5%	30,76 bc	24,0 abc
Isolado URM 6779	71,92 a	18,0 bc
Isolado URM 6779 + Extrato de mastruz a 5%	72,73 a	51,3 a
CV (%)	26,44	87,90

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os dados referentes a mortalidade confirmada foram comparados pelo teste de médias t.

4.3. Avaliação da associação do extrato de mastruz e isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) no controle da cochonilha do carmim em casa de vegetação

A partir da análise dos dados de mortalidade corrigida, todos os tratamentos testados em casa de vegetação foram eficientes no controle da cochonilha do carmim, exceto a combinação do isolado URM6779 e extrato hidroetanólico 5% que diferiu da utilização dos extratos isoladamente (Tabela 6). Medeiros et al. (2005) relataram efeito tóxico de mastruz contra a oviposição de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) utilizando a concentração aquosa de 10%, enquanto Almeida et al. (2011) observaram um valor de 100% na mortalidade de *Zabrotes subfaciatus* (Bohemann) (Coleoptera: Bruchidae). Avaliando a patogenicidade de isolados de *F. oxysporum*, *F. solani* e *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. contra *Brahmina coriacea* (Hope) (Coleoptera: Scarabidae) em campos de batata, Anupam Sharma et al. (2012) constataram um percentual de mortalidade corrigida de 49,63%, 42,59% e 10,74%, respectivamente, ao 15º dia de aplicação. A população da formiga de fogo (*Solenopsis invicta*) (Hymenoptera: Formicidae) em uma horta foi reduzida em 22% após sete dias da aplicação do extrato aquoso de mastruz a 50% (Quaresma et al., 2014). O potencial controlador do mastruz pode estar relacionado à presença de flavonoides e esteroides (Almeida et al., 2011) que apresentam propriedades antimicrobianas e são produzidas pelas plantas em resposta adaptativa as agressões do meio ambiente (Lopes et al., 2005).

Os tratamentos referentes ao uso combinado do isolado URM6779 tanto com o extrato hidroetanólico 5% (24,66%) quanto com o extrato aquoso a 10% (26,66%) apresentaram valores semelhantes de mortalidade confirmada, diferindo do controle e da aplicação do URM6779 (4,66%). Fatores climáticos são decisivos no estabelecimento do fungo, segundo Alves (1986) a temperatura é um fator imprescindível no desenvolvimento do parasita sobre o hospedeiro, tendo influência direta na germinação dos esporos, na formação do tubo germinativo e na penetração sobre o hospedeiro. Temperaturas na faixa entre 25-28 °C são consideradas ideais para crescimento fúngico (Loureiro et al., 2012), entretanto, a temperatura média registrada na casa de vegetação foi de 33,6°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) o que pode ter influenciado na germinação dos conídios. Outro fator

pode ser atribuído à dificuldade dos fungos penetrarem na cutícula da cochonilha do carmim devido a grande quantidade de cera produzida (Santos, 2015).

Em casa de vegetação, alguns tratamentos utilizados no presente trabalho se mostraram como potenciais agentes de controle para serem testados em campo contra a cochonilha do carmim, tendo em vista os valores obtidos de mortalidade corrigida. O extrato aquoso (10%) e o isolado URM6779 em conjunto com este extrato apresentaram os melhores resultados para estudos em campo contra a cochonilha do carmim, informações necessárias para que possam ser disponibilizadas para os agricultores.

Tabela 6. Mortalidade corrigida e confirmada (percentual médio) de *Dactylopius opuntiae* pelos extratos hidroetanólico e aquoso de mastruz, isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC 20-b) e combinação dos isolados e extratos hidroetanólico e aquoso de mastruz.

Tratamentos	Mortalidade	
	Corrigida	Confirmada
Controle		0,00 b
Extrato hidroetanólico de mastruz a 5%	65,04 a	-
Extrato aquoso de mastruz a 10%	66,25 a	-
Isolado URM 6779 + Extrato hidroetanólico de mastruz a 5%	38,95 b	24,66 a
Isolado URM 6779	49,14 ab	4,66 b
Isolado URM 6779 + Extrato aquoso de mastruz a 10%	44,50 ab	26,66 a
CV (%)	20,92	86,03

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os dados referentes a mortalidade confirmada foram transformados em $x=\sqrt{x}$.

5. CONCLUSÕES

- O extrato aquoso de mastruz é compatível com todosos isolados de FIESC 20-b na maioria das concentrações estudadas.

- O isolado URM6779 e seu uso combinado com o extrato aquoso 10% são os tratamentos mais indicados para o controle da cochonilha do carmim.

- Em regiões de clima seco e temperaturas elevadas, os extratos aquoso (10%) e hidroetanólico (5%) são os mais indicados para o controle da cochonilha, pela fácil obtenção e preparo, surge como uma ferramenta eficaz para os pequenos agricultores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267. 1925.
- Addario, E., Turchetti, T. Parasitic fungi on *Dryocosmus kuriphilus* in *Castanea sativa* necrotic galls. *Bulletin of Insectology* 64 (2): 269-273. 2011.
- Albuquerque SG, Santos DC. Palma forrageira. In: Kiill LHP, Menezes EA (Eds.). Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o semi-árido. *Embrapa Informação Tecnológica*, p. 91-127. 2005.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M. *Introductory Mycology*. New York, John Wiley. 1996.
- Almeida, J.E.M., Batista Filho, A., Santos, A.S. Avaliação do controle biológico de *Mahanarva fimbriolata* (Homoptera: Cercopidae) com o fungo *Metarhizium anisopliae* em variedades de cana-de-açúcar e diferentes épocas de corte. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v.70, 1: 101-103. 2003.
- Almeida, A.M.B., Batista Filho, A., Tavares, F.M., Leite, LG. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle de *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.76, n.3, p.489-493. 2009.
- Almeida, A.A., Silva, R.A., Araújo, W.L., Oliveira, A.V.B., Leite, D.T. Problemas Fitossanitários Causados pela Cochonilha do Carmim a Palma Forrageira no Cariri Ocidental Paraibano. *Revista Verde* 6 (3): 98-108. 2011.
- Almeida, F.A.S., Costa, G.V., Silva, J.F., Pessoa, R.G.S.E.B. Bioatividade de extratos vegetais no controle do *Zabrotes subfasciatus* isolado e inoculado em uma massa de feijão *Phaseolus*. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.13, n.Especial, p.375-384, 2011.
- Alves, S. B. Produção de fungos entomopatogênicos. In: Alves, S. B. (Ed.) *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ, 845-869. 1998.
- Alves, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: Alves, S. B. (Ed.) *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ, 289-371. 1998.
- Alves, S.B. Produção de fungos entomopatogênicos. In: Alves, S.B. (Ed.), *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba, FEALQ, pp. 845-869. 1998.
- Alves, S.B., Lopes, R.B. (eds.). *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba: FEALQ. 2008.
- Alves, S.B., Moino, Jr., Almeida, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: Alves, S.B. (ed.), *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba, FEALQ, pp.217-238. 1998.
- Alves, S.B., Moraes, S.A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: Alves, S.B. (Ed.), *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba, FEALQ, pp. 765-778. 1998.
- Alves, S.B., Moraes, S.A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: Alves, S.B. (Ed.), *Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ, cap. 23, p. 765-777. 1998.
- Alves, S.B., Pereira, R.M. Fungos no controle biológico de pragas. In: *Encontro Sul brasileiro de controle biológico de pragas*, p.197-189. 1986.
- Amaral, C.L.F.; Oliveira, J.E.Z.; Casali, V.W.D. Plantas medicinais e aromáticas: Melhoramento genético. UFV, 153p, 1999.
- Anand, R.; Tiwary, B.N. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to eggs and larvae of *Spodoptera litura*, the common cutworm. *Biocontrol Science and Technology*, v.19, p.919-929, 2009.

- Andaló, V., Júnior, A.M., Lenira, V.C., Cecília, S., Souza, G.C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com Agrotóxicos Visando o Controle da Cochonilha-da-Raiz-do-Cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Neotropical Entomology*, v.33, n.4. 2004.
- Anupam Sharma, Chandla, V.K., Thakur, D.R. Biodiversity and Pathogenicity Potential of Mycoflora Associated with *Brahmia coriacea* in Potato Fields of North Western Indian Hills. *Journal of Entomology* 9: 319-331. 2012.
- Araújo, J.M., Marques, E.J., Oliveira, J.V. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* 38(4): 000-000. 2009.
- Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Morand, P. Insecticide of plant origin. Washington, DC, *American Chemical Society*. v. 387. 214p. 1990.
- Balsan, R. Impactos decorrentes da modernização da agricultura brasileira. *Revista de Geografia Agrária*, v. 1, n. 2, p. 123-151. 2006.
- Barbera, G. História e importância econômica e agroecologia. In: BARBERA, Giuseppe; INGLESE, Paolo (Eds.). *Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/PB, p.1-11, 2001.
- Barros, C.S., Barros, S.S., Dias, K.V.C., Almeida-Neto, J.R. Estudo etnobotânico com moradores do bairro Paraíso sobre o mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) em Santana-AP, Brasil. *Revista de Humanidades do Curso de Ciências Sociais da UNIFAP*. 3: 245-246. 2010.
- Batista Filho, A., Almeida, J.E.M., Machado, L.A. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* no controle da cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hom.: Cercopidae). *Stab Açúcar, Alcool e Subprodutos*, v. 21, p. 84-89, 2002.
- Bell, A. Fellows, L.E., Simmonds, M.S.J. Natural products from plants for the control of insect pests. In: Hodgson, E., Kuhr, R.J. *Safer insecticide development and use*. New York and Basel, Marcel Dekker, p.337-383. 1990.
- Bitancourt, A. A. Relação das doenças e fungos parasitas observados na secção de Fitopatologia durante os anos de 1931 e 1932. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.5, p.185-196, 1934.
- Bittencourt, V.R.E.P., Mascarenhas, A.G., Faccini, J.L.H. Mecanismo de infecção do fungo *Metarhizium anisopliae* no carrapato *Boophilus microplus* em condições experimentais. *Ciência Rural*, v. 29, n. 2, p. 351-354, 1999.
- Botelho, A.A.A., Monteiro, A.C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia*, v.70, n.2, p.361-369. 2011.
- Brito, C.H., Lopes, E.B., Albuquerque, I.C., Batista, J.L. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no controle da cochonilha-do-carmim na Paraíba. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. v.8, n.2. 2008.
- Brito, E.S.G. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle da cochonilha-do-carmim *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). 127f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos Dos Goytacazes-RJ. 2011.
- Brunherotto, R., Vendramim, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. *Neotropical Entomology*, 30: 455-459, 2001.
- Butt, T.M., Coates, C.J., Dubovskiy, I.M., Ratcliffe, N.A. Entomopathogenic Fungi: New insights into host-pathogen interactions. *Advances in Genetics*, v.94, 2016.

- Cavalcanti, V.A.L.B., Sena, R.C., Coutinho, J.L.B., Arruda, G.P., Rodrigues, F.B. Controle das cochonilhas da palma forrageira. *Boletim IPA responde* nº 39. Recife, p. 1-2, 2001.
- Chiacchio, F.P.B. Incidência da cochonilha do carmim em palma forrageira. *Revista Bahia Agrícola*, v.8, p.12-14, 2008.
- Cloyd, R. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better then conventional insecticide? *Illinois Pesticide Review*, 17: 1-3, 2004.
- Consolo, V.F., Salerno, G.L., Beron, C.M. Pathogenicity, formulation and storage of insect pathogenic hyphomycetous fungi tested against *Diabrotica speciosa*. *BioControl*, 48(6): 705-712. 2003.
- Costa, E.A.D., Matallo, M.B., Almeida, J.E.M., Loureiro, E.S., Sano, A.H. Efeito de herbicidas utilizados em cana-deaçúcar no desenvolvimento in vitro do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v.14, p.19-24. 2004.
- Costa, E.L.N., Silva, R.F.P., Fiuza, L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extrato de plantas inseticidas. *Acta Biologica Leopoldensia*. v.26, n.2, p.173-185. 2004.
- Cruz, G.L. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil. 5 ed. Rio de Janeiro: Ed. Bertrand Brasil, 599p. 1995.
- Debach, P., Rosen, D. Biological control by natural enemies. 2th ed. Cambridge: *University Press*, 386 p. 1991.
- Dolinski, C., Lacey, L.A. Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruits. *Neotropical Entomology*, v.36, n.2, p.161-179. 2007.
- Duarte, J. A. S., Zeni, T. L., Bizi, R. M., Grigoletti Jr, A. Efeito de extratos de *Eucalyptus globulus* sobre o desenvolvimento dos fungos *Botrytis cinerea* e *Cylindrocladium spathulatum*. In: *II Confies*. Curitiba, PR. 2004.
- Ehlers, E. Agricultura sustentável: Origens e perspectivas de um novo paradigma. 2.ed., *Guaíba: Agropecuária*, 157 p. 1999.
- Falcão, H.M. Ecofisiologia de cultivares de *Opuntia ficus-indica* Mill (Cactaceae) de tolerância contrastante à cochonilha-do-carmim *Dactylopius opuntiae*. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)- Universidade Federal de Pernambuco. 2012.
- Ferreira, F.T.R. Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e a sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). 117 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.
- Figueiredo, M.F.S., Marques, E.J., Lima, R.O.R., Oliveira, J.V. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Contra a broca gigante da cana-de-açúcar *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae). *Neotropical Entomology*, v.31, n.3, p.397-403. 2002.
- Figueiredo, V.S. A palma forrageira como agente mitigador da desertificação no Seridó Oriental. 115f, Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) Universidade Federal de Campina Grande, 2011.
- Flores, V. & Tekelenburg, A. Produção de corante Dacti (*Dactylopius coccus*). *Agroecologia, Cultivo e Utilizações da Palma Forrageira*. SEBRAE. João Pessoa, p. 169-186. 2001.
- Freitas, S.R.Q. Bioatividade de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) e *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae). 80f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.
- Frigo, S.M.; Azevedo, J.L. Variabilidade para crescimento, conidiação e sobrevivência à luz ultra-violeta em *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Revista de Agricultura*, v.61, n.2, p.137-147, 1986.
- Galdino, P.O et al. Caracterização sensorial de iogurte enriquecido com polpa da palma forrageira (*Napolea cochenillifera*). *Revista verde*. v.5, n.5, p. 53 – 60. 2010.

- Garcia, M.V., Monteiro, A.C., Szabó, M.P.J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. *Ciência Rural*, v.34, n.5. 2004.
- Gardiano, C.G., Ferraz, S., Lopes, E.A., Ferreira, P.A., Amora, D.X., Freitas, L.G. Avaliação de extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood. *Ciências Agrárias* 30 (3): 551-556. 2009.
- Gava, C.A.T. Lopes, E.B. Produção de Mudas de Palma Forrageira Utilizando Fragmentos de Cladódios. *Instruções Técnicas da Embrapa Semiárido*, Petrolina, p. 101. 2012.
- Geiser, D. M., Jime'nez-Gasco, M. M.; Kang,S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N. Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A., O'Donnell, K.. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology* 110: 473–479. 2004.
- Golpalakrishnan, C., Naraynan, K. Occurrence of *Fusarium oxysporum* Schlecht and its pathogenicity on guava scale *Chloropulvinaria psidii* Maskel (Hemiptera: Coccidae). *Current Science* 58 (2): 92-93. 1989.
- Gomes, S.A. Avaliação da toxicidade de extratos da alga *Laurencia dendroideae* e de *Azadirachta indica* (nim) e sinergismo entre o óleo de nim e o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* contra larvas de *Aedes aegypti*. 70 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Campos dos Goytacazes, RJ. 2012.
- Guimarães, A.S., Albuquerque, C.J.B., Costa, A.C.F., Andrade, A.T., Saturnino, H, M.. Potencial da palma forrageira para o Norte de Minas Gerais. *EPAMIG. Circular Técnica*, n.181. 2013.
- Gupta, P., Paul, M.S., Sharma, S.N. Studies on compatibility of white muscardine fungus *Beauveria bassiana* with some neem products. *Indian Phytopathology*. 52 (3): 278-280. 1999.
- Gupta, R. B. L., Sharma, S. and Yadava, C. P. S. Compatibility of two entomofungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* with certain fungicides, insecticides and organic manures. *Indian Journal of Entomology*, 64: 48 - 52. 2002.
- Hirose, E., Neves, P.M.O.J., Zequi, J.A.C., Martins, L.H., Peralta, C.H., Junior, A.M. Effect of Biofertilizers and Neem Oil on the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol.44, n.4. 2001.
- Hochuli, D.F. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behavior, morphology and host use. *Austral Ecology*, 26: 563-570, 2001.
- Hussey, N.W., Tynsley, T.W. Impression of insect pathology in the Peoples Republic of China. In. BURGESS, H. D. (Ed.) *Microbial control of insects and mites*. 1981.
- Islam, M.T., Castle, S.J., Shunxiang, R. Compatibility of the insect pathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 134: 28-34. 2010.
- Kismann, K.G. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo: BASF Brasileira, p.608. 1991.
- Landa, Z., Bohata, A. Compatibility of entomogenous fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with natural insecticides based on azadirachtin and neem oil. *Collection of Scientific Papers – Series for Crop Sciences*, Ceske Budejovice, 16(2): 99-106. 1999.
- Lazo, M. L. S. R. Caracterização e patogenicidade de fungos entomopatogênicos isolados do percevejo-bronzeado do eucalipto, (Hemiptera: Thaumastocoridae). 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2012.

- Lecuona, R.E., Tigano, M.S., Diaz, B.M. Characterization and pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) in Argentina. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*, Piracicaba, v.25, n.2, p.299-307, 1996.
- Lehner, M.S., Júnior, P.T.J., Viera, R.F., Lima, R.F., Silva, R.A., Soares, B.A., Nascimento, M., Carneiro, J.E.S. Potencial de herbicidas para o controle de patógenos de dolo do feijão. *Planta Daninha*, v.32, n.1, p.117-123. 2014.
- Leite, L.G., H.M. Takada, C.L. Cardoso, O.V. Villela, A. Batista-Filho & J.C. Aguiar. Controle do gorgulho aquático do arroz *Oryzophagus oryzae*, pelo fipronil e óleo mineral associado ao fungo *B. bassiana*. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 24: 339-344. 1995.
- Leslie, J.F., Summerell, B.A. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Professional Ames, Iowa. 2006.
- Liu, W., Xie Y., Dong, J., Xue J., Zhang, Y., Lu, Y., Wu, J. Pathogenicity of Three Entomopathogenic Fungi to *Matsucoccus matsumurae*. *PLoS ONE* 9 (7): 1-9. 2014.
- Longo, S., Rapisarda, C. Pragas da palma forrageira. In: Barbera, G., Inglese, P., Barrios, E. *P. Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE p. 103-111, 2001.
- Lopes, E. B. Cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*, Cockrell): Nova Praga da Palma Forrageira (*Opuntia ficus-indica*, Mill) nos Estados de Pernambuco e Paraíba. Nota Técnica. Disponível em: <www.emepa.org.br>. Acesso em 20/05/2014.
- Lopes, E. B., Brito, C. H., Albuquerque, I. C., Batista, J.L. Seleção de genótipos de palma forrageira (*Opuntia spp*) e (*Nopalea spp*) resistentes à cochonilha do Carmin (*Dactylopius opuntiae* Cockerele, 1929) na Paraíba, Brasil. *Engenharia Ambiental, Espírito Santo do Pinhal*, v. 7, n. 1, p. 204-215, 2010.
- Lopes, E.B., Brito, C.H., Albuquerque, I.C., Batista, J.L. Desempenho do óleo de laranja no controle da cochonilha-do-carmim em palma gigante. *Engenharia Ambiental Espírito Santo do Pinhal*, v.6, 1: 252-258. 2009.
- Lopes, R.B. Seleção de Fungos Entomopatogênicos e Controle de *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1999.
- Lorenzi, H., Matos, F. J. de A. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 512p, 2002.
- Loureiro, E.S., Batista Filho, A., Almeida, J.E.M., Mendes, J.M., Pessoa, L.G.A. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em condições de campo. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.79, n.1, p.47-53. 2012.
- Loureiro, E.S., Júnior, A.M., Arnosti, A., Souza, G.C. Efeito de Produtos Fitossanitários Químicos Utilizados em Alface e Crisântemo Sobre Fungos Entomopatogênicos. *Neotropical Entomology*, v.32, n.2. 2002.
- Macedo, D., Alves, S.B., Signoretti, A.G.C. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* para cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar (*Mahanarva fimbriolata*) utilizando nova metodologia. In: *Simpósio de Controle Biológico Livro de Resumos*, p.86. 2003.
- Macêdo, H.C. Macêdo. Influência da cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) sobre o sistema produtivo da palma. 41f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Geografia)- Universidade Estadual da Paraíba. 2014.
- Majumbar, A., Boetel, M.A., Jaronski, T.S. Discovery of *Fusarium solani* as a naturally occurring pathogen of sugarbeet root maggot (Diptera: Ulidiidae) pupae: Prevalence and baseline susceptibility. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97: 1-8. 2008.
- Mann, J. Secondary metabolism. Oxford, Clarendon, 374p. 1995.
- Marangoni, C., Moura, N.F., Garcia, F.R.M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. *Revista de Ciências Ambientais*, v.6, n.2, p.95-112. 2012.

- Marques, E.J. Controle microbiano de cigarrinhas (Hemíptera: Cercopidae) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.: Eficiência e limitações. In: Simpósio de controle biológico, *Anais*, p.312. 1992.
- Marques, R.P., Monteiro, A.C., Pereira, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, 6: 1675-1680. 2004.
- Martins, M.K. Variabilidade genética de isolados de *Fusarium* spp. e estudo da interação com a planta hospedeira. 124f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2005.
- Medeiros, C.A.M., Júnior, A.L.B., Torres, A.L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. *Bragantia*, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.
- Melo, I.S., Azevedo, J.L. Controle microbiano de inseto-praga e seu melhoramento genético. In: Azevedo, J.L. *Controle biológico*. SP: EMBRAPA, 1998.
- Menezes, E.L.A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. *Seropédica: Embrapa Agrobiologia*, 58p, 2005.
- Mertz, N.R., Alves, L.F.A., Marcomini, A.M., Oliveira, D.G.P., Santos, J.C. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. *BioAssay*. 2010.
- Miranda, L.L.D., Vasconcelos, A.C.M., Ferreira, J.M.G., Júnior, C.A.G., Coelho, A.L., Gil, M.A. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) no Controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em Cana-de-Açúcar. *Neotropical Entomology*, v.33, n.6. 2004.
- Mohan, M. C., P. Narasimha, N. P. Reddy, U. K. Devi, R. Kongara, and H. C. Sharma. Growth and insect assays of *Beauveria bassiana* with neem to test their compatibility and synergism. *Biocontrol Science and Technology* 17: 1059-1069. 2007.
- Moino J.R., A., Alves, S.B., Pereira, R.M. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. *Journal of Applied Entomology*, v.122, p.301-305. 1998.
- Monteiro, P.C. O uso do extrato aquoso de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) No controle de monogenóideos (Plathyhelminthes) em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). 2012.
- Moreira, M.D., Picanço, M.C., Silva, E.M., Moreno, S.C., Martins, J.C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. *Controle alternativo*. p.1-27. 2005.
- Nana, P., Maniania, N.K., Maranga, R.O., Boga, H.I., Kutima, H.L., Eloff, J.N. Compatibility between *Calpurnia aurea* leaf extract, attraction aggregation, and attachment pheromone and entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on viability, growth, and virulence of the pathogen. *Journal of Pest Science*, 85:109–115. 2012.
- Nankinga, C. M., Moore, D. Reduction of banana weevil populations using diferente formulations of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology* 10(5): 645-657. 2000.
- Neves, P.M.O.J., Hirose, E., Tchujo, P.T., Junior, A.M. Compatibility of Entomopathogenic Fungi with Neonicotinoid Insecticides. *Neotropical Entomology*, vol.30, n.2. 2001.
- Novo, R.J., Viglianco, A., Nasseta, M. Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst). *Agriscientia*, v. 14, p.31-36, 1997.
- O'Donnell K., Humber, R.A., Geiser, D.M., Kang, S., Park, B., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Johnston, P.R., Aoki, T., Rooney, A.P., Rehner, S.A. Phylogenetic diversity of insecticolous *Fusaria* inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and Fusarium MLSTL. *Mycologia* 104: 427-445. 2012.

- O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M.G., Sarver, B.A.J., Balajee, S.A., Schroers, H.J., Summerbell, R.C., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Zhang, N., Aoki, T., Jung, K., Park, J., Lee, Y., Kang, S., Park, B., Geiser, D.M. Internet-Accessible DNA Sequence Database for Identifying *Fusaria* from Human and Animal Infections. *Journal of Clinical Microbiology* 48(10): 3708-3718. 2010.
- Oliveira, F.T., Souto, J.S., Silva, R.P., Andrade Filho, F.C., Pereira Júnior, E.B. Palma forrageira: adaptação e importância para ecossistemas áridos e semiáridos. *Revista Verde*, v.5, n.5, p.27-37. 2010.
- Pacola-Meirelles, L.D., Azevedo, J.L. Variabilidade natural do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v.33, p.657-672, 1990.
- Padulla, L.F.L & Alves, S.B. Suscetibilidade de ninfas de *Diaphorina citri* a fungos entomopatogênicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.76, n.2, p. 297-302. 2009.
- Parra-Vergara, N.V. Caracterización parcial de plantas com efecto antagônico para insectos en granos almacenados. In: Simposio internacional sobre substancias vegetales y minerales en el combate de plagas. *Memorias*. Acapulco: SME, p.108-110, 1998.
- Peixoto, M. J. A. Aclimação de plantas micropropagadas de palma forrageira – *Opuntia ficus-indica* – (L). Mill, 45p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, 2004.
- Pelizza, S.A., Stenglein, S.A., Cabello, M.N., Dinolfo, M.I., Lang, C.E. First record of *Fusarium verticillioides* as an entomopathogenic fungus of grasshoppers. *Journal of Insect Science*. 11:70. 2011.
- Pires, L.M., Marques, E.J., Oliveira, J.V., Alves, S.B. Seleção de Isolados de Fungos Entomopatogênicos para o Controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua Compatibilidade com Alguns Inseticidas Usados na Cultura do Tomateiro. *Neotropical Entomology*, v.39, n. 6. 2010.
- Pramila Gupta, M., Paul, M.S., Sharma, S.N. Studies on compatibility of whitemuscardine fungus *Beauveria bassiana* with some neem products. *Indian Phytopathology* 52(3): 278-280. 1999.
- Procopio, S.O., Vendramim, J.D. Avaliação da atividade inseticida de diversos pós de origem vegetal em relação a *Acanthoscelides obtectus* (Say). In: Congresso Brasileiro de Entomologia. Resumos. Salvador: SBE, p.326. 1997.
- Procopio, S.O., Vendramim, J.D. Avaliação do potencial inseticida de diversos pós de origem vegetal para o controle de *Sitophilus zeamais* Mots. In: Congresso Brasileiro de Entomologia. *Anais*. Caxambu: SBE, p.622. 1995.
- Quaresma, R.C., Ribeiro, I.C., Rodrigues, M.T.P., Pinheiro, R.R., Pinheiro, G.A., Ferreira, A.S., Júnior, R.F.S., Flor, A.S.S.O. Extrato aquoso de mastroz: Uma alternativa natural no controle biológico de formigas de fogo. In: *XI Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas*. 2014.
- Quintela, E.D. et al. Controle de pragas do feijoeiro com o nim indiano e outras plantas. In: BOIÇA JR., A.L. et al. V Curso sobre produção e utilização do Nim (*Azadirachta indica*) na agropecuária. Jaboticabal : Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, p.1-10. 2002.
- Ramos, E.Q. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* Biótipo B. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura
- Reigart, J.R., Roberts, J.R. Biologicals and insecticides of biological origin In: Reigart, J.R., Roberts, J.R. Recognition and management of pesticide poisonings. National Pesticide Information Center (NPIC). 1999. http://npic.orst.edu/RMPP/rmpp_ch7.pdf. Acessado em 10 de setembro de 2015.
- Robbs, C.F. Combate biológico por intermédio de micro-organismos. Primeiro Simpósio Brasileiro sobre Controle Biológico. *Boletim do Instituto de Ecologia e Agricultura*, v.21, p.41-46, 1962.

- Rodríguez, H.C. Propriedades plaguicidas del epazote *Teloxys ambrosioides* (Chenopodiaceae). In: Simposio Nacional Sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. *Memorias*. Acapulco: SME, p.95-109. 2000.
- Rosales, H.A.C. Efeito de derivados de meliáceas e isolados de fungos entomopatogênicos sobre o cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). 143f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
- Rossi-Zalaf, L.S., S.B. Alves, R.B. Lopes, S. Silveira Neto, M.R. Tanzini. 2008. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In Alves S.B. & R.B. Lopes. Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba, FEALQ, pp. 279-302.
- Sáenz-Hernández, D. Fabricação de alimentos e obtenção de subprodutos. In: Barbera, Guiseppe; Inglese, Paolo (Eds.). *Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira*. Paraíba: SEBRAE/PB, p.140-146. 2001.
- Sahayaraj, K., Namasivayam, S.K.R., Rath, J.M.. Compatibility of entomopathogenic fungi with extracts of plants and commercial botanicals. *African Journal of Biotechnology*. v.10. 6: 933-938. 2011.
- Santos, A.C.S., Oliveira, R.L.S., Costa, A.F., Tiago, P.V., Oliveria, N.T. Controlling *Dactylopius opuntiae* with *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and extracts of *Ricinus communis* and *Poincianella pyramidalis*. *Journal Pest Science*. DOI 10.1007/s10340-015-0689-4. 2015.
- Santos, A.C.S. Associação de isolados de *Fusarium* entomopatogênicos aos extratos de *Caesalpinia pyramidalis* e *Ricinus communis* visando o controle de *Dactylopius opuntiae* em *Opuntia ficus-indica*. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) - Centro de Ciências Biológicas (Departamento de Micologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE. 2015.
- Santos, D.C. dos. Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. *IPA Documentos*, 30. 48p. 2006.
- Santos, L. P., Lima, E. A. L. A. Ação inseticida de *Beauveria bassiana* e de extratos vegetais no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). In: *Anais do XIX CONIC III CONITI VII JOIC*. 2011.
- Santos, S.G. Corrêa, R.X. Diversidade genética de *Chenopodium ambrosioides* da região cacaueteira da Bahia com base em marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.41, 1: 161-164. 2006.
- Schrank, A., Bassanesi, M.C., Pinto, J.R., Costa, S.V., Bogo, M.R., Silva, M.S.N. Superoxide dismutases in entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Ciências e cultura*, v.45, p.200-205. 1993.
- Sérvio, E. M. L., Araújo, K. S., Nascimento, L. R. S., Costa, C. L. S., Mendes, L. M. S., Filho, A. L. M. M., Santos, Í. M. S. P. Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos. *ConScientiae Saúde*, 10(3): 441-448. 2011.
- Silva, F.A.S., Azevedo, C.A.V. Principal components analysis in the software assistat-statistical assistance. In: 7th World Congress on Computers in Agriculture. Reno. Proceedings of the 7th World Congress on Computers in Agriculture. St. Joseph: ASABE, CD-Rom. pp.1-5. 2009.
- Silva, M.A.Q., Santos, P.S., Gava, C.A.T. Isolamento de Fungos Patogênicos a *Dactylopius opuntiae*, Nativos de Solos do Semiárido de Pernambuco e Paraíba. In: *jornada de iniciação científica da embrapa semi-árido*, 4. Petrolina. *Anais da jornada de iniciação científica da embrapa semi-árido*. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2009. 172-177. 2009.

- Silva, M.P.L. Bioatividade de extratos vegetais no controle de Pulgão preto *Toxoptera citricida* Kirk., 1907 (Hemiptera: Aphididae) na cultura dos citros e sobrevivência de joaninhas e abelhas. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Universidade Federal do Recôncavo Baiano. 2009.
- Sósa-Gomez, D.R., Alves, S.B., Milani, M.T. Characterization and phenetic analysis of geographical isolate of *Beauveria* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29, n.3, p.401-409, 1994.
- Spodek, M., Bem-Dov, Yair., Protasov, A., Carvalho, C.J., Mendel, Z. First record of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae) from Israel. *Phytoparasitica*, v.42, p.377-379. 2014.
- Su, H.C.F. Toxicity and repellency of *Chenopodium* oil to four species of stored product insects. *Journal of Entomological Science*, v.26, p.178-182, 1991.
- Sujji, E.R., Pires, C.S.S., Schimidt, F.G.V., Armando, M.S., Borges, M.M., Carneiro, R.G., Valle, J.C.V. Controle biológico de insetos-praga na soja orgânica do Distrito Federa. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v.19, n.2, p.299-312. 2002.
- Takada, H.M. Patogenicidade e seleção de isolados de METARHIZIUM ANISOPLIAE (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae). 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2002.
- Tamai, M.A., Alves, S.B., Lopes, R.B., Faion, M., Padulla, L.F.L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Arquivos Instituto Biológico*, v.69, n.3, p.89-96. 2002.
- Tanzini, M.R., Alves, S.B., Stten, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. *Arquivos do Instituto Biológico*. v.69, p.65-69. 2002.
- Tavares M.A.G.C.; Vendramim J.D. Atividade inseticida da erva-de-santa-maria *Chenopodium ambrosioides* L. (chenopodiaceae) em relação a *Sitophilus zeamais* mots., 1855 (Coleoptera: curculionidae). *Arquivo Instituto de Biologia*, São Paulo, v.72, 1: 51-55. 2005.
- Tavares, M.A.G.C., Vendramim, J.D. Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., Sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology* 34 (2). 2005.
- Teetor-Barsch G.H, Roberts D.W. Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopatologia* 84, 3-16. 1983.
- Tiago, P.V., Souza, H.M.L., Moysés, J.B., Oliveira, N.T., Lima, E.A.L.A. Differential pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and the control of the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.54, n.3. 2011.
- Tiago, P.V., Medeiros, L.V., Barbosa, L.F.S., Lopes, R.S., Oliveira, L.G., Costa, A.F., Oliveira, N.T. 2012. Seleção de isolados de *Fusarium lateritium* visando o controle biológico da cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*) em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*). In: XXI Congresso Latino Americano de Microbiologia - ALAM, 2012, Santos-SP. Anais do XXI Congresso Latino Americano de Microbiologia - ALAM, 2012.
- Thacker, J.R.M. An Introduction to arthropod pest control. Cambridge University. 360p. 2002.
- Thomazini, A.P. de B.W., Vendramim, J.D., Lopes, M.T.do R. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Sciência Agrícola*. 57: 13-17. 2000.

- Trindade, R.C.P., Marques, I.M.R., Xavier, H.S., Oliveira, J.V. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. *Scientia Agricola*, v.57, n.3, p.407-413. 2000.
- Vasconcelos, A. G. V., Lira, M.A., Cavalcanti, V. L. B., Santos, M. V. F., Willadino, L. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmin (*Dactylopius sp*) *Revista Brasileira Zootecnia*, v. 38, n. 5, p. 827-831, 2009.
- Viana, P.A., Prates, H.T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. *Bragantia*, v.62, n.1, p.69-74. 2003.
- Vieira, L.M., Galdino, S., Padovani, C.R. Utilização de Pesticidas na Agropecuária dos Municípios da Bacia do Alto Taquari de 1988 a 1996 e Risco de Contaminação do Pantanal, MS, Brasil. *Circular Técnica EMBRAPA Pantanal*, 27, 2001.
- Vieira, L.S., Cavalcante, A.C.R. Resistência antihelmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.19, 3: 99-103. 1999.
- Vieria, L.S. Fitoterapia da Amazônia: Manual de Plantas Medicinais ("A Farmácia de Deus). 2.ed. *Agronômica Ceres*, 347p, 1992.
- Warumby, J.F., Arruda Filho, G.P., Cavalcanti, V.A.L.B. Pragas da palma. In: Menezes, R.S.C; Simões, D.A., Sampaio, E.V.S.B (Eds.). *A palma no Nordeste do Brasil*. 1.ed. Recife: UFPE; Editora Universitária, p.65-80. 2005.
- Warumby, J.F., Arruda, G.P., Pessoa, L.G.A., Archanjo Neto, M.M. Etologia de la cochinilla del carmim (*Dactylopius spp.*) (Homoptera; Dactylopiidae) em el Departamento Pernambuco – Brasil. Oaxaca, México. Memorias. Congreso Internacional de Grana Cochinilla y Colorantes Naturales, p. 68, 1998.
- Zappelini, L.O., Almeida, J.E.M., Batista Filho, A., Giometti, F.H.C. Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (metsch.) Sorok. visando o controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.77, n.1, p,75-82. 2010.
- Zeni, T. L., Grigoletti Jr., A., Auer, C. G., Magalhães, W. L. E., Duarte, J. A. S., Bizi, R. M. Uso de extrato aquoso e óleo de eucaliptos no controle de fungos fitopatogênicos in vitro. In: *III Evento de iniciação científica da EMBRAPA florestas*. Colombo, pr. 2004.