



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

ATHALINE GONÇALVES DINIZ

**PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES
Fusarium incarnatum-equiseti CONTRA INSETOS- PRAGA EM
LABORATÓRIO E NO CAMPO**

RECIFE

2021

ATHALINE GONÇALVES DINIZ

**PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES
Fusarium incarnatum-equiseti CONTRA INSETOS-PRAGA EM
LABORATÓRIO E NO CAMPO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Aplicada.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patricia Vieira Tiago

Coorientador: Dr. Antonio Félix da Costa

**RECIFE
2021**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Diniz, Athaline Gonçalves.

Patogenicidade de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* contra insetos-praga em laboratório e no campo. / Athaline Gonçalves Diniz. – 2021.

94 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Patrícia Vieira Tiago.

Coorientador: Antonio Felix da Costa.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de fungos, Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Extratos botânicos - controle combinado. 2. Fungos entomopatogênicos. 3. *Fusarium caatingaense*. 4. *Fusarium pernambucanum*. 5. *Fusarium sulawesiense*. I. Tiago, Patrícia Vieira. (orient.). II. Costa, Antonio Felix da. (Coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-067

ATHALINE GONÇALVES DINIZ

**PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES
Fusarium incarnatum-equiseti CONTRA INSETOS-PRAGA EM
LABORATÓRIO E NO CAMPO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Aplicada.

Aprovada em: 30/08/21.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr.^a Patricia Vieira Tiago (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr.^a Virginia Michelle Svedese (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dr.^a Mariele Porto Carneiro Leão (Examinadora Externa)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^o. Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr.^a Ana Carla da Silva Santos (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao Universo por tudo o que ele me proporcionou durante os quatro anos e cinco meses do meu Doutorado. Estar viva e concluindo o Doutorado em meio a uma pandemia é uma grande vitória.

Agradeço aos meus pais, Maria do Socorro e Romeu Diniz por todo apoio, confiança, carinho, cuidado, amor e toda educação a mim proporcionada. Agradeço também aos meus irmãos Margarida, Aline, Ataine, Adricia, Rennan e Romeu Júnior, pelo incentivo e as palavras de força que me fizeram seguir em frente.

Ao meu namorado Rodrigo, que está há pouco tempo comigo, mas que já me faz uma pessoa imensamente feliz. Obrigada pelo amor, carinho, cuidado, respeito e compreensão.

À minha orientadora e amiga, a professora Dr.^a Patricia Vieira Tiago, por todos os ensinamentos, confiança, carinho, cuidado e respeito. Por todas as noites e finais de semana dedicados a me ajudar. Eu nunca estive sozinha, pois tive a melhor orientadora que alguém poderia ter. Obrigada por isso, Universo ♥.

Ao meu co-orientador e amigo Dr. Antônio Félix da Costa, o qual eu chamo carinhosamente de “Professor Félix”. Agradeço por todos os ensinamentos, carinho, cuidado e respeito. Por toda ajuda nos experimentos em campo. Foi o melhor co-orientador que eu poderia ter.

Agradeço a professora Dr.^a Virginia Michelle Svedese, por gentilmente ter aceitado compor a minha banca de defesa.

Ao professor e amigo Dr. Roger, que sempre foi um amorzinho comigo. Obrigada pelos ensinamentos, pelo tempo disponibilizado a me ajudar, pelo carinho, cuidado, respeito e por aceitar participar da minha banca de defesa.

Agradeço a minha querida amiga Aninha (Dr.^a Ana Carla), por todo apoio, incentivo, carinho, cuidado, respeito e pelas trocas de conhecimento. Obrigada por também aceitar compor a banca de defesa.

À pesquisadora e amiga Dr.^a Mariele, “Mari”, membro suplente da banca, que assim como os meus orientadores sempre me ajudou. Agradeço imensamente pelo tempo dedicado a mim e aos meus experimentos.

Agradeço a professora Dr.^a Neiva, membro suplente da banca, por todos os ensinamentos, pela convivência no laboratório e pela ajuda disponibilizada nos momentos em que precisei.

Ao pesquisador Djalma Cordeiro, pela viabilização do campo experimental de palma forrageira na estação experimental do IPA, em Arcoverde, meu muito obrigada.

À Dr.^a Iwanne, pela ajuda na análise dos dados.

Agradeço também às amigadas que fiz no Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), Lu (Luciana), Manu (Emanuelle), Malu (Maria Luiza), May (Mayara) e aos alunos que fizeram estágio no IPA, no período em que frequentei o laboratório, foi um prazer conviver com todos.

Agradeço ao Nazaré, por todo o suporte dado a mim durante os experimentos no IPA.

Agradeço aos amigos do laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores da Universidade Federal de Pernambuco, Marília, Thaiza, Amanda, Ewerton, Nicole, Ana Cláudia, Daniel, Sarah e Renan.

Aos alunos PIBICs que eu tive durante o desenvolvimento da minha pesquisa. João, Leonardo e Roberta, obrigada por toda ajuda durante os experimentos e por contribuírem para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro durante o Doutorado. Sem esse apoio eu não teria conseguido concluir o Doutorado. Obrigada pela extensão da bolsa no período pandêmico, foi essencial para que eu pudesse finalizar a minha pesquisa.

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

Obrigada!

“Be less curious about people
and more curious about ideas.”

Marie Curie

RESUMO

Nasutitermes corniger é uma praga urbana que causa danos a edificações históricas, construções urbanas, árvores ornamentais e frutíferas. *Spodoptera frugiperda* e *Dactylopius opuntiae* são pragas agrícolas do milho e palma forrageira, respectivamente, que também podem atacar diferentes culturas. O controle dos referidos insetos é feito com agrotóxicos. Como forma de reduzir este tipo de controle, fungos e extratos vegetais vêm sendo estudados. Neste estudo, a patogenicidade e virulência de 27 isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) foi avaliada contra *N. corniger* e *S. frugiperda*. Avaliou-se também o efeito combinado dos isolados URM 6778 e URM 6779 de *F. caatingaense* a extratos aquosos de *Ricinus communis* e *Nicotiana tabacum* no controle de *D. opuntiae* no campo. Para os testes de patogenicidade contra *N. corniger* e *S. frugiperda* em laboratório e *D. opuntiae* no campo foram utilizadas suspensões de 1×10^7 conídios/mL. Os dados de mortalidade de *N. corniger* acumulada ao quinto dia foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Scott – Knott ($p \leq 05$). As variáveis (isolados fúngicos e tempo) foram submetidas à análise de regressão. A mortalidade de *D. opuntiae* foi corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5%. A interação dos agentes de controle combinados foi avaliada pela fórmula de Koppenhöfer et al. (2000). Os resultados revelaram a ausência de patogenicidade dos isolados de *Fusarium* contra *S. frugiperda*. Contudo, todos os isolados testados foram patogênicos a *N. corniger*, com mortalidade acumulada confirmada de 38,22 – 96%. Os maiores valores de mortalidade acumulada confirmada foram observados para *F. pernambucanum* URM 7556 (96%), *F. sulawesiense* URM 7560 (88,89%) e *F. caatingaense* URM 6783 (84,89%). Os agentes de controle testados contra *D. opuntiae* no campo, apresentaram interação aditiva e mortalidade corrigida de 90,82% para URM 6779 + *N. tabacum* a 10%, e 82,11% para URM 6778 + *R. communis* a 5%. Os resultados obtidos refoçam o potencial de *Fusarium* no controle de insetos-praga, e incentivam o desenvolvimento de estudos aprofundados para garantir a eficácia, aplicabilidade e segurança de tais fungos em um futuro produto biológico.

Palavras-chave: Controle combinado; Extratos botânicos; Fungos entomopatogênicos; *Fusarium caatingaense*; *Fusarium pernambucanum*; *Fusarium sulawesiense*.

ABSTRACT

Nasutitermes corniger is an urban pest that causes damage to historic buildings, urban constructions, ornamental and fruit trees. *Spodoptera frugiperda* and *Dactylopius opuntiae* are agricultural pests of maize and cactus pear, respectively, that can also attack different crops. The control of these insects is done with pesticides. As a way to reduce this type of control, fungi and plant extracts have been studied. In this study, the pathogenicity and virulence of 27 isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (FIESC) were evaluated against *N. corniger* and *S. frugiperda*. The combined effect of *F. caatingaense* isolates URM 6778 and URM 6779 with aqueous extracts of *Ricinus communis* and *Nicotiana tabacum* in the control of *D. opuntiae* in the field was also evaluated. For pathogenicity tests against *N. corniger* and *S. frugiperda* in the laboratory and *D. opuntiae* in the field, suspensions of 1×10^7 conidia/mL were used. The mortality data of *N. corniger* accumulated on the fifth day were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means compared by the Scott - Knott test ($p \leq 05$). The variables (fungal isolates and time) were submitted to regression analysis. *D. opuntiae* mortality was corrected using the Schneider-Orelli formula. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means compared using the Tukey test at 5%. The interaction of the combined control agents was evaluated using the formula by Koppenhöfer et al. (2000). The results revealed the lack of pathogenicity of the *Fusarium* isolates against *S. frugiperda*. However, all tested isolates were pathogenic to *N. corniger*, with confirmed cumulative mortality of 38.22 – 96%. The highest confirmed cumulative mortality values were observed for *F. pernambucanum* URM 7556 (96%), *F. sulawesiense* URM 7560 (88.89%) and *F. caatingaense* URM 6783 (84.89%). The control agents tested against *D. opuntiae* in the field showed additive interaction and corrected mortality of 90.82% for URM 6779 + 10% *N. tabacum*, and 82.11% for URM 6778 + 5% *R. communis*. The results obtained reinforce the potential of *Fusarium* in the control of insect pests, and encourage the development of in-depth studies to ensure the efficacy, applicability and safety of such fungi in a future biological product.

Keywords: Combined control; Botanical extracts; Entomopathogenic fungi; *Fusarium caatingaense*; *Fusarium pernambucanum*; *Fusarium sulawesiense*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Sistema de castas encontrado em <i>Nasutitermes corniger</i>	16
Figura 2 –	Ciclo geral da biologia dos térmitas com representação das castas.....	17
Figura 3 –	<i>Spodoptera frugiperda</i> se alimentando de diferentes fases de desenvolvimento do milho (<i>Zea mays</i>): A- folhas; B- inflorescência e C- espiga.....	20
Figura 4 –	Ciclo de vida de <i>Spodoptera frugiperda</i>	21
Figura 5 –	Colônias de <i>Dactylopius opuntiae</i> em <i>Opuntia fícus-indica</i>	22
Figura 6 –	Ciclo de vida de <i>Dactylopius opuntiae</i>	23
Figura 7 –	Mortalidade acumulada confirmada durante cinco dias de avaliação, representada por meio da regressão quadrática polinomial para os isolados de <i>F. sulawesiense</i> (A); <i>Fusarium pernambucanum</i> (B) e <i>Fusarium catingaense</i> (C), e linear para os isolados de <i>Fusarium catingaense</i> (D, E e F) após aplicação de 1×10^7 conídios/mL contra <i>Nasutitermes corniger</i>	44
Figura 8 –	Infestação de <i>Dactylopius opuntiae</i> em cladódios <i>Opuntia ficus-indica</i> em dezembro de 2020 (A), janeiro de 2021 (B) e fevereiro de 2021 (C).....	49
Figura 9 –	Insetos de <i>Dactylopius opuntiae</i> mortos recobertos por cera: dezembro de 2020 (A), janeiro de 2021 (B) e fevereiro de 2021 (C), evidenciados manualmente com agulha sob estereomicroscópio.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Hospedeiros de origem e números de acesso da sequência de DNA dos isolados do Complexo de Espécies <i>Fusarium incarnatum equiseti</i> (FIESC) usados no estudo.....	35
Tabela 2 –	Mortalidade diária confirmada (percentual médio $\pm$ desvio padrão D.P.) de <i>Nasutitermes corniger</i> , ao longo de cinco dias de avaliação após a aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (<i>Fusarium sulawesiense</i> , <i>Fusarium pernambucanum</i> e <i>Fusarium caatingaense</i>).....	41
Tabela 3 –	Mortalidade acumulada confirmada (percentual médio $\pm$ desvio padrão D.P.) de <i>Nasutitermes corniger</i> cinco dias após a aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados do complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> <i>F. sulawesiense</i>	42
Tabela 4 –	Mortalidade acumulada confirmada (percentual médio $\pm$ desvio padrão D.P.) de <i>Nasutitermes corniger</i> cinco dias após aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados de <i>Fusarium pernambucanum</i>	42
Tabela 5 –	Mortalidade acumulada confirmada (percentual médio $\pm$ desvio padrão D.P.) de <i>Nasutitermes corniger</i> cinco dias após aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados de <i>Fusarium caatingaense</i>	43
Tabela 6 –	Produção de conídios por g de arroz, viabilidade e pureza dos isolados de <i>Fusarium catingaense</i> levados a campo.....	45
Tabela 7 –	Análise fitoquímica do extrato aquoso de <i>Ricinus communis</i> e <i>Nicotiana tabacum</i>	45
Tabela 8 –	Mortalidade total de <i>Dactylopius opuntiae</i> (porcentagem média $\pm$ erro padrão E.P.) causada pelos extratos aquosos de <i>Ricinus communis</i> a 5% e <i>Nicotiana tabacum</i> a 10% combinados com os isolados URM 6778 e URM 6779 de <i>Fusarium caatingaense</i> respectivamente.....	46
Tabela 9 –	Mortalidade confirmada de <i>Dactylopius opuntiae</i> por <i>Fusarium caatingaense</i> em diferentes tempos de aplicação no campo.....	46

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 OBJETIVOS.....	14
1.1.1 Objetivo geral.....	15
1.1.2 Objetivos específicos.....	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 INSETOS-PRAGA.....	15
2.1.1 <i>Nasutitermes corniger</i> (Blattodea: Termitidae).....	15
2.1.2 <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae).....	19
2.1.3 <i>Dactylopius opuntiae</i> (Hemiptera: Dactylopiidae)	22
2.2 FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS COMO AGENTES CONTROLADORES DE INSETOS-PRAGA.....	25
2.3 CONTROLE DE INSETOS-PRAGA POR ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>	28
2.4 <i>Fusarium</i> COMO ENTOMOPATOGENO.....	29
2.5 EXTRATOS VEGETAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE INSETOS-PRAGA.....	30
2.6 FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS COMBINADOS A EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE INSETOS-PRAGA.....	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 FUNGOS.....	34
3.2 COLETA DE <i>Nasutitermes corniger</i>	36
3.3 TESTE DE PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DO COMPLEXO <i>Fusarium</i> <i>incarnatum-equiseti</i> CONTRA <i>Nasutitermes corniger</i>	36
3.4 CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	36
3.5 TESTE DE PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DO COMPLEXO <i>Fusarium</i> <i>incarnatum-equiseti</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
3.6 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Ricinus communis</i> E <i>Nicotiana</i> <i>tabacum</i> E ANÁLISE FITOQUÍMICA.....	37
3.7 EFEITO DO USO COMBINADO DE <i>Fusarium caatingaense</i> COM EXTRATOS DE <i>Ricinus communis</i> E <i>Nicotiana tabacum</i> NO CONTROLE DE <i>Dactylopius opuntiae</i> NO	

CAMPO.....	38
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
4 RESULTADOS.....	41
4.1 PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE ESPÉCIES DO COMPLEXO <i>Fusarium</i> <i>incarnatum-equiseti</i> contra <i>Nasutitermes corniger</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	40
4.2 EFEITO DO USO COMBINADO DE <i>FUSARIUM CAATINGAENSE</i> COM EXTRATOS DE <i>Ricinnus communis</i> E <i>Nicotiana tabacum</i> NO CONTROLE DE <i>Dactylopius opuntiae</i> NO CAMPO.....	45
5 DISCUSSÃO.....	47
6 CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
APÊNDICE A – ARTIGO 1: PUBLICADO NO INTERNATIONAL JOURNAL OF PEST MANAGEMENT –ISSN 0967-0874 – QUALIS A4 – FATOR DE IMPACTO - 1.766 – DINIZ, A.G. et al. PATHOGENICITY OF ISOLATES OF <i>Fusarium incarnatumequiseti</i> SPECIES COMPLEX TO <i>Nasutitermes corniger</i> (BLATTODEA: TERMITIDAE) AND <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) 68:(2), 103-11. DOI: 10.1080/09670874.2020.1797232.....	72
APÊNDICE B – ARTIGO 2: A SER SUBMETIDO A CROP PROTECTION – ISSN:0261- 2194 – QUALIS A2 – FATOR DE IMPACTO - 3.036 – DINIZ, A.G. et al. POTENTIAL OF <i>Fusarium caatingaense</i> COMBINED WITH EXTRACTS OF <i>Nicotiana tabacum</i> AND <i>Ricinnus communis</i> IN THE CONTROL OF <i>Dactylopius opuntiae</i> (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE) IN THE FIELD.....	82

1 INTRODUÇÃO

O termo “praga” é uma denominação dada a certos organismos dentre eles alguns insetos, que devido a eventos ecológicos e muitas vezes a atividades antrópicas apresentam um aumento na sua densidade populacional, acarretando em danos ao ambiente, seres humanos e ao setor agrícola (BRECHELT, 2004). Entre os diversos insetos que podem atuar como pragas, destacamos *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Blattodea: Termitidae), *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) e *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae).

Nasutitermes corniger é uma espécie de cupim arborícola amplamente distribuída nas Américas, encontrada desde o sul do México ao norte da Argentina (CONSTANTINO, 2002). No Brasil, é uma das mais importantes pragas urbanas de insetos, atacando madeiras duras ou moles, secas ou úmidas, manufaturadas ou não (ABREU et al., 2002). É responsável por danos a edificações históricas, construções urbanas, árvores ornamentais e frutíferas (CONSTANTINO, 2002; ALBUQUERQUE et al., 2012). A fácil adaptabilidade deste inseto a ambientes urbanos, agrícolas e naturais, torna-o dominante (ABREU et al., 2002). E, a existência de ninhos policíclicos ocasiona infestações reincidentes, que dificultam o controle de *N. corniger* (COSTA-LEONARDO, 2002).

Spodoptera frugiperda é uma das principais pragas do milho (*Zea mays* L.), atacando a planta tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva (AFONSO-ROSA e BARCELOS, 2012). O inseto alimenta-se de folhas jovens e destrói as pequenas plantas, podendo também alimentar-se das espigas (OTA et al., 2011; CAMPANHA et al., 2012). A ação da *S. frugiperda* sobre o milho, cultura de subsistência para Região Nordeste, pode reduzir a produção em até 73% (CRUZ et al., 1999; COSTA, 2016). Além do milho, esse inseto ataca cultivares de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), aveia (*Avena sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), trigo (*Triticum sativum* L.), soja (*Glycine max* L.) e hortaliças, tendo preferência por gramíneas (POLANCZYK, 2004).

Dactylopius opuntiae é um inseto-praga da palma forrageira *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae), cultura de extrema importância para o setor agropecuário da Região Nordeste. Essa planta é utilizada pelos agricultores como principal fonte alimentar para rebanhos de caprinos, ovinos e bovinos, especialmente nos longos períodos de estiagem (LOPES et al., 2009). *D. opuntiae* se alimenta da seiva vegetal e inocula toxinas nas raquetes de palmas saudáveis, causando-lhes danos como a clorose, que é o amarelecimento da planta, seguido do apodrecimento, tombamento e morte do vegetal (MAZZEO et al., 2019). A ação deste inseto sobre a palma forrageira, se não controlada,

pode levar a perdas que variam de um quinto (TORRES e GIORGI, 2018) até 100% de áreas cultivadas (SILVA et al., 2013).

O controle dos referidos insetos é feito a partir da utilização de produtos químicos, tais como Attamix 400P, Bioinset 800 SC e Cypermaster® 250 CE, indicados para o controle de cupins do gênero *Nasutitermes*; Engeo™ Pleno para o controle de *S. frugiperda* e *D. opuntiae*; e, Actara® 750 SG e Galil® SC indicados também para o controle de *D. opuntiae*. Todavia, a utilização de tais produtos acarreta danos à saúde de seres humanos e animais, afeta o ecossistema local devido à contaminação por resíduos tóxicos e limita a ação de fungos que naturalmente regulam as populações de insetos no ambiente (CARNEIRO et al., 2015).

Opções de controle menos danosas vêm sendo estudadas, como extratos vegetais, fungos entomopatogênicos e a combinação de ambos agentes de controle (VIGUERAS et al., 2009; SANTOS et al., 2011; SANTOS et al., 2016; VELEZ et al., 2019; DINIZ et al., 2020). Fungos entomopatogênicos podem controlar hospedeiros em vários estágios de desenvolvimento, penetrando por diversas vias do tegumento e dispersando-se horizontalmente (ALVES e LOPES 2008). Os extratos vegetais, por sua vez, contêm substâncias bioativas que atuam principalmente por contato, agindo nos quimiorreceptores e afetando o comportamento de insetos (CORRÊA e SALGADO, 2011). A combinação de fungos entomopatogênicos e extratos vegetais pode levar a um aumento na mortalidade de insetos, superior ao observado no uso individual dos agentes (ISLAM et al., 2011; BONTEMPO et al., 2011; NANA et al., 2012; SANTOS et al., 2016; VELEZ et al., 2019), sendo uma opção de controle bastante vantajosa.

O Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) é um dos mais ricos em espécies entomófilas (O'DONNELL et al., 2012) e várias estão sendo estudadas como possíveis opções para o controle biológico de insetos (SANTOS et al., 2020). Resultados promissores de isolados desse complexo foram relatados contra diferentes espécies de insetos-praga (ADDARIO e TURCHETTI 2011; LIU et al., 2014; FAN et al., 2014; CARNEIRO-LEÃO et al., 2017). A eficácia de isolados do FIESC foi observada pelo nosso grupo de pesquisa ao combinarmos *Fusarium caatingaense* (= FIESC 20) (SANTOS et al., 2019) a extratos de *Ricinus communis* Linnaeus (SANTOS et al., 2016) e *Nicotiana tabacum* Linnaeus (DINIZ et al., 2020) no controle de *D. opuntiae* em laboratório. Entretanto, o potencial de tais tratamentos no controle dessa praga precisa ser avaliado em testes de campo. Além disso, a realização de estudos envolvendo espécies do FIESC contra diferentes insetos-praga se fazem necessários, uma vez que possibilitarão a verificação da patogenicidade e especificidade de tais fungos a outros hospedeiros.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Determinar a patogenicidade e virulência de isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) contra *Nasutitermes corniger*, *Spodoptera frugiperda* e *Dactylopius opuntiae*.

1.1.2 Objetivos específicos

Determinar a patogenicidade e virulência de isolados de *Fusarium sulawesiense* (FIESC 16), *Fusarium pernambucanum* (FIESC 17) e *F. caatingaense* (FIESC 20) contra *N. corniger* e *S. frugiperda* em laboratório;

Fornecer informações sobre a especificidade de isolados de *Fusarium sulawesiense* (FIESC 16), *Fusarium pernambucanum* (FIESC 17) e *F. caatingaense* (FIESC 20) ao hospedeiro testado;

Verificar a eficácia da combinação de isolados de *F. caatingaense* com extratos de *Ricinus communis* e *Nicotiana tabacum* no controle de *D. opuntiae* no campo;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

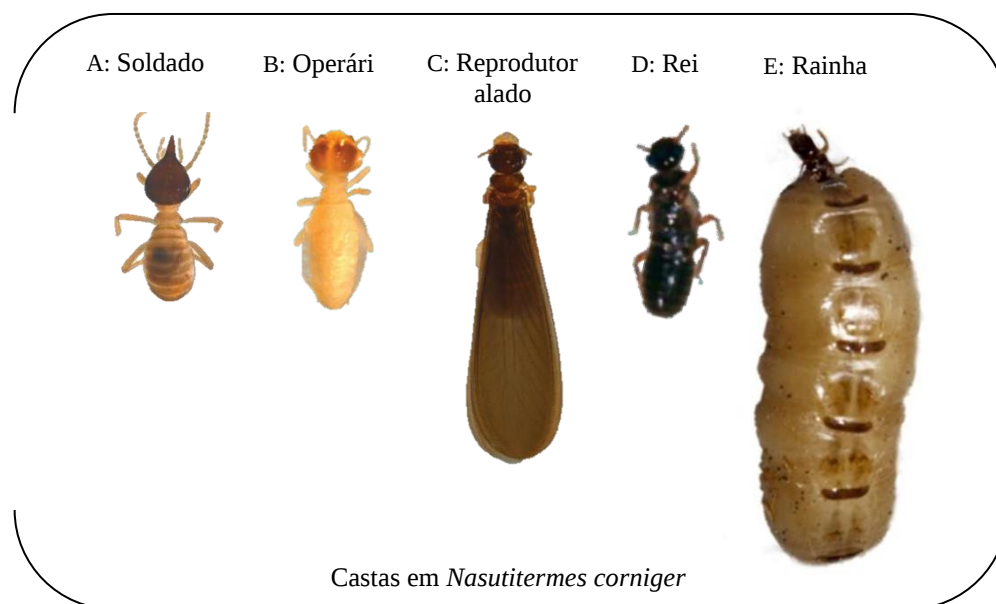
2.1 INSETOS-PRAGA

2.1.1 *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae)

O cupim arborícola *Nasutitermes corniger* pertence a infraordem Isoptera, ordem Blattodea e Família Termitidae (INWARD et al., 2007; LEGENDRE et al., 2015). É um inseto eussocial, organizado em um sistema de castas com operários, soldados e reprodutores (rei e rainha), que diferem entre si quanto à morfologia, fisiologia e funções (Figura 1) (KRISHNA, 1969).

Os operários de *N. corniger* têm o corpo mole, cabeça e mandíbula esclerotizadas e medem cerca de 3 mm de comprimento, enquanto os soldados são menores e mais leves, possuem mandíbulas vestigiais reduzidas e são alimentados pelos operários (HARTKE, 2010). Tanto os operários quanto os soldados atingem a maturidade após um ano, com expectativa de vida de cinco anos. São indivíduos estéreis, lucífugos e não apresentam visão (THORNE, 1983; SCHEFFRAHN et al., 2005; VERMA et al., 2009).

Figura 1 – Sistema de castas encontrado em *Nasutitermes corniger*.



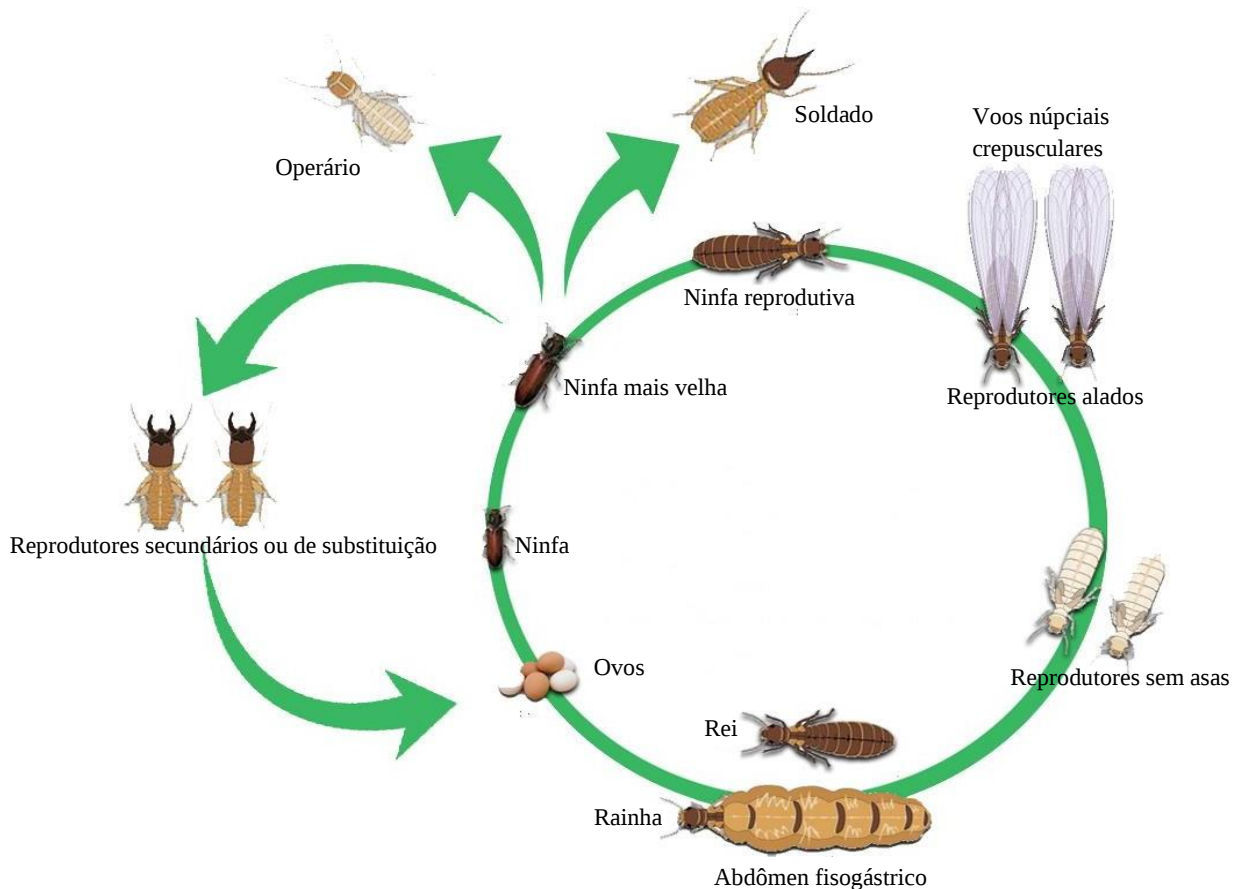
Fonte: A, B e C: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN127500.pdf>; D: <https://www.pctonline.com/article/stopping-the-conehead-termite-invasion/>; E: <https://www.deviantart.com/peregrijn/art/Protect-thy-queen-309734148> adaptado por Diniz A.G. (2021).

Os soldados são responsáveis pela detecção de uma fonte alimentar, saindo em grupos de aproximadamente cinco indivíduos à procura de alimento, como madeira morta ou viva, gramíneas, plantas herbáceas, fungos e excremento de animais (DUARTE et al., 2008). Após encontrarem alimento, estes insetos retornam à colônia deixando rastros de feromônio pelo caminho, recrutando novos soldados e alguns operários. Este comportamento se repete até que haja o recrutamento em massa de operários. Durante o percurso, os operários reforçam a trilha com feromônios e fezes, que compõem grande parte do material estrutural dos túneis de forrageamento (TRANIELLO, 1982; COSTA-LEONARDO, 2002; GAZAL et al., 2014). Além de organizar a busca por alimento, os soldados são responsáveis pela defesa da colônia, esguichando uma secreção pegajosa, odorífera e irritante aos predadores, a uma distância de três vezes o tamanho do seu corpo (MCMAHAN, 1982; TRANIELLO, 1981; GAZAL et al., 2012).

A colônia de *N. corniger* pode ter uma ou múltiplas rainhas e costuma ser policálica, com formação de múltiplos ninhos satélites (ADAMS e ATKINSON, 2008). Quando maduras, as colônias de *N. corniger* liberam grandes quantidades de cupins alados para os voos nupciais crepusculares, em média 5.000 a 25.000 indivíduos (THORNE, 1983; BOULOGNE et al., 2017). Após a formação dos casais reais, estes encontram locais úmidos e com alimento, perdem suas asas e permanecem juntos, uma vez que a rainha necessita ser fecundada periodicamente (BOULOGNE et al., 2017). As rainhas têm uma expectativa de vida de até 25 anos, possuem um abdômen

fisogástrico, com capacidade para colocar até 3.000 ovos, os quais apresentam coloração de amarelo a branco e necessitam de 50 a 60 dias de incubação até a eclosão (VERMA et al., 2009; SCHEFFRAHN et al., 2005). No geral, os cupins se desenvolvem por paurometabolia, passando pelas fases de ovo, ninfa e adulto. As ninfas dão origem aos operários, soldados e a indivíduos alados ou adultos férteis. Reprodutores secundários ou de substituição podem ser encontrados nos ninhos desses insetos, com o objetivo de substituir o casal real em caso de morte ou complementar a postura de ovos na colônia, caso necessário (Figura 2) (KRISHNA e WEESNER, 1969; BOULOGNE et al., 2017).

Figura 2 – Ciclo geral da biologia dos cupins com representação das castas.



Fonte: Berti-filho (1993). Imagem adaptada por Diniz A.G. (2021).

Os cupins desempenham papéis ecológicos importantes, como a decomposição de material vegetal, contribuindo com a ciclagem de nutrientes, aumento da porosidade e aeração do solo (GARNIER-SILLAM e HARRY, 1995; BIGNELL e EGGLETON, 2000), além de estabelecerem relações ecológicas complexas de competição, simbiose, parasitismo e comensalismo com diversas espécies de organismos (FONTES, 2002; ANDERSON, 2009). Contudo, o impacto ambiental decorrente de ações humanas e o processo de urbanização desenfreado, diminui a fonte alimentar

dos cupins, fazendo com que esses busquem e colonizem novas áreas, tornando-se pragas econômicas graves (ALVES e BERTI FILHO, 1995).

Nasutitermes corniger é uma das espécies do gênero *Nasutitermes* mais bem distribuída, relatada desde o sul do México ao norte da Argentina, nas ilhas do Caribe, Bahamas, Flórida, Nova Guiné (SCHEFFRAHN et al. 2002; SCHEFFRAHN et al. 2005; EVANS et al., 2013), nas Antilhas, incluindo Porto Rico e Ilhas Virgens dos Estados Unidos (SCHEFFRAHN et al., 2003). No Brasil, o gênero *Nasutitermes* tem distribuição tanto em ambientes de Mata Atlântica, quanto de Cerrado e de Caatinga (ZORZENON e POTENZA, 1998; CONSTANTINO, 1999), sendo relatado em vários estados das regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (BANDEIRA et al., 1998; CONSTANTINO, 2002; COSTA-LEONARDO, 2002).

Devido à fácil adaptabilidade a ambientes urbanos, agrícolas e naturais, *N. corniger* torna-se muitas vezes um inseto dominante (ABREU et al., 2002). Seus ninhos geralmente são construídos em superfícies expostas acima do solo, em cima de árvores e arbustos, no interior de estruturas vazias (FONTES e MILANO, 2002; THORNE, 2013), dentro de residências, em edículas e edificações como forros e sótãos (FONTES, 1995). A sua ação acarreta danos estruturais a residências e edifícios históricos, bem como provocam a deterioração de pinturas, livros, documentos antigos, coleções de objetos e monumentos de importância histórica (VERMA et al., 2009). A estrutura do ninho é feita de madeira mastigada, de areia cimentada e de fluídos salivares e fecais (THORNE et al., 1983).

A existência de ninhos policíclicos torna o controle de *N. corniger* difícil, levando a reincidência das infestações (COSTA-LEONARDO, 2002). Produtos químicos, com substâncias ativas que inibem a degradação da madeira são utilizados para reduzir as infestações por cupins, incluindo injeção termiticida no solo, iscas e fumigação química, aplicados antes ou após a infestação dos cupins (PAIVA et al. 2011). Para reduzir os riscos decorrentes da utilização de produtos químicos contra *N. corniger*, diferentes opções de controle são estudadas, incluindo produtos vegetais na forma de pós (CRUZ et al., 2012), óleos e extratos (SOARES et al., 2008; SANTANA et al., 2010; LIMA et al., 2013; SANTOS et al., 2019), metabólitos ativos como lectinas (SÁ et al., 2008; SÁ et al., 2009; NAPOLEÃO et al., 2011; PAIVA et al., 2011) e inibidores de protease (FERREIRA et al., 2019).

Os fungos também são estudados visando o controle de diferentes espécies de *Nasutitermes*. *Metarhizium* spp. (ALBUQUERQUE et al., 2003; ALBUQUERQUE et al., 2005; SALAS-ACUNÃ, 2005), *Isaria farinosa* (Holm: Fries) Fries (*Cordyceps farinosa*) (LOPES et al., 2017), *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Isaria javanica* (Frieder e Bally) Samson e Hywell-Jones (*Cordyceps javanica*) e *Penicillium* sp. (OLIVEIRA et al., 2018) estão entre as espécies fúngicas mais avaliadas para essa finalidade. Esta alternativa de controle tem mostrado-se promissora, uma

vez que esses patógenos são mais lentos no processo de colonização, levando a mudanças comportamentais e fisiológicas dos cupins, que se tornam uma fonte de disseminação do inóculo por meio do contato social com os membros da colônia. Além disso, o crescimento e desenvolvimento do fungo podem ser favorecidos pela temperatura e umidade constantes nas galerias subterrâneas de cupins (NEVES e ALVES, 2004).

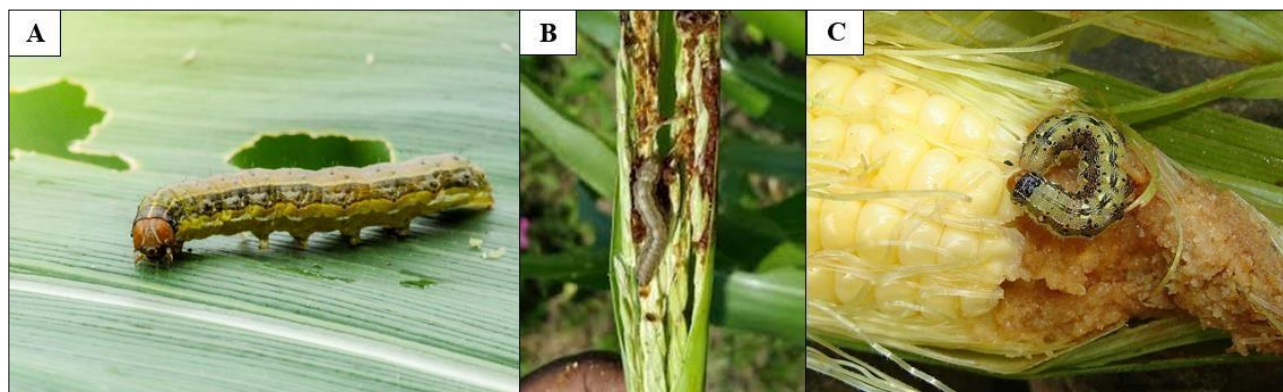
2.1.2 *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Spodoptera frugiperda Smith (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida na fase larval por lagarta-do-cartucho é um inseto polífono, que se alimenta de vegetais de diferentes espécies da família Poaceae, incluindo milho, milheto, arroz, trigo, aveia, sorgo, cana-de-açúcar e pastagens de gramíneas, além de outras culturas agrícolas, como repolho, beterraba, amendoim, soja, alfafa, cebola, tomate, batata e algodão (POGUE, 2002; SILVA et al., 2017; BATEMAN et al., 2018). É considerada uma das principais pragas do milho (*Zea mays* L., Poaceae), nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, devido a sua voracidade e ocorrência ao longo de todo o ciclo da planta (SARMENTO et al., 2002).

O milho cultivado mundialmente é um cereal de grande importância econômica, tanto na agroindústria quanto na pecuária (PALIWAL et al., 2001; LÓPEZ et al., 2018), sendo empregado na alimentação humana e animal (ZURE et al., 2011). Nos Estados Unidos, cerca de 50% do milho produzido é destinado à alimentação animal, enquanto que no Brasil cerca de 60% a 80% é destinado a este fim (NAPOLEÃO, 2006). Ainda nos Estados Unidos, o milho é a principal fonte para produção de bioetanol e vem ganhando espaço na produção de tal combustível no Brasil (CALSONI, 2020).

Na região semiárida do Brasil, o milho é cultura de subsistência e fonte de energia para grande parte da população. Contudo, a ação de insetos nocivos como a lagarta-do-cartucho pode reduzir a sua produção em até 73% (COSTA, 2016). Na fase vegetativa do milho, as lagartas se alimentam das folhas (CASMUZ et al., 2010), e na fase de desenvolvimento mais avançada da planta, as lagartas danificam inflorescências, atingindo a espiga do milho (Figura 3) (BRUNS e ABBAS, 2006; RAMÍREZ et al., 2017). A ação da lagarta pode resultar em perdas de até 54,5% no rendimento dos grãos, a depender do estágio de desenvolvimento do milho, do sistema de produção utilizado, do local de plantio e das condições climáticas (FIGUEIREDO et al. 2006; BARROS et al., 2010; RIBEIRO et al., 2014).

Figura 3 – *Spodoptera frugiperda* se alimentando de diferentes fases de desenvolvimento do milho (*Zea mays*): A- folhas; B- inflorescência e C- espiga.

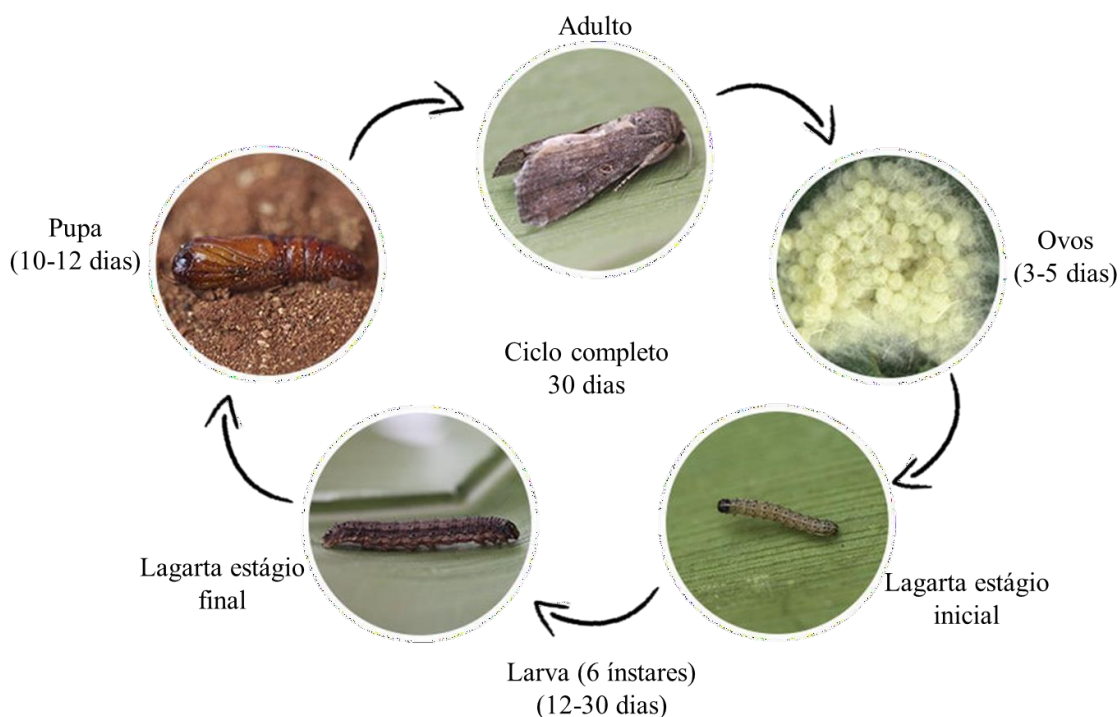


Fonte: A: <https://sementesbiomatrix.com.br/blog/fitossanitario/manejo-de-pragas/spodoptera/>; B: https://www.ippc.int/static/media/files/pestreport/2017/04/17/FAM_survey_2017.pdf; C: <https://www.koppert.com.br/desafios/control-de-pragas/lagartas/helicoverpa-zea/> Imagens adaptadas por Diniz A.G. (2021).

A lagarta-do-cartucho é nativa das Américas, sendo encontrada do norte da Argentina ao sul do Canadá (SPARKS, 1979; BOLZAN et al., 2019). A ausência de diapausa, a capacidade reprodutiva e migratória e a extensa gama de plantas hospedeiras, tornaram *S. frugiperda* uma espécie invasora em países da África Ocidental e Central, estabelecendo-se em mais de 30 países africanos (GOERGEN et al., 2016). A mesma também foi relatada como espécie invasora na Índia (SHARANABASAPPA et al., 2018). No Brasil, devido a grande diversidade e disponibilidade de alimentos, a lagarta-do-cartucho ocorre durante todo o ano e em todas as regiões do país (PRATISSOLI et al., 2004; MOURA et al., 2012).

O desenvolvimento da lagarta-do-cartucho é holometábolo, passando pelos estágios de ovo, larva, pupa e adulto. Após serem liberados, os ovos apresentam coloração verde-clara, mudando para alaranjada cerca de 12 a 15 horas após a postura. Próximo à eclosão das lagartas, os ovos exibem uma coloração escurecida devido à cápsula cefálica do embrião vista através do cório translúcido (CRUZ, 1995). A postura dos ovos é feita em massas de camadas sobrepostas com aproximadamente 100 ovos. O número de posturas por fêmea é de no máximo treze, sendo que uma única fêmea pode fazer oito posturas em um só dia (CRUZ, 1995). O período larval varia de 12 a 30 dias e ocorre dentro do cartucho do milho. Após o desenvolvimento completo da lagarta, esta deixa o cartucho, penetra no solo e transforma-se em pupa, permanecendo nesse estágio durante 10 a 12 dias (SARMENTO et al., 2002). Uma nova oviposição é iniciada três dias após a eclosão dos adultos, que têm longividade de doze dias. O ciclo completo é de aproximadamente 30 dias, variando conforme as condições ambientais e a fonte alimentar utilizada pela lagarta (Figura 4) (CRUZ, 1995).

Figura 4 – Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*



Fonte: <https://promip.agr.br/o-manejo-integrado-da-spodoptera-frugiperda-no-milho/> Imagem adaptada por Diniz A.G. (2021).

A principal forma de controle da *S. frugiperda* é a aplicação de diferentes agrotóxicos e a utilização de cultivares geneticamente modificados que expressam as proteínas Bt, as quais possuem um ou mais genes de *Bacillus thuringiensis* Berliner, uma bactéria patogênica à lagarta-do-cartucho (TAVARES et al. 2010, BENTIVENHA et al., 2018). Entretanto, o uso contínuo e inadequado destas formas de controle pode contribuir para a evolução e a resistência de insetos (STORER et al. 2012; CARVALHO et al., 2013; VÉLEZ et al. 2013; BERNARDI et al. al. 2014; HUANG et al., 2014; SANTOS-AMAYA et al., 2015; HORIKOSHI et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2016; OKUMA et al., 2017).

Métodos alternativos de controle são viáveis e vem sendo empregados contra a lagarta-do-cartucho, como extratos vegetais, parasitoides, predadores e parasitas. O uso de extratos vegetais como o extrato etanólico de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. (Dennstaedtiaceae) (RAMOS et al., 2018) e os extratos de *Azadirachta indica* A. Juss., (Magnoliopsida), *Piper nigrum* L. (Piperaceae), *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae), *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. P. Wilson (Verbenaceae) e *Allium sativum* L. (Alliaceae) (GUALTEROS et al., 2019), apresentaram resultados satisfatórios no controle da *S. frugiperda* em laboratório e campo respectivamente.

O parasitoide *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionade) é considerado um importante agente de controle da lagarta-do-cartucho, devido à capacidade de parasitar toda a massa de ovos deste inseto (FIGUEIREDO et al., 2002), assim como o predador *Doru luteipes* Scudder (Dermaptera: Forficulidae) que devido a grande predação de ovos é capaz de reduzir a população da lagarta-do-cartucho em até 70% (CRUZ et al., 1995). O baculovírus é um dos vírus mais estudados no controle da lagarta-do-cartucho, podendo controlar eficientemente esse inseto em condições de campo, se utilizado corretamente (VALICENTE e TUELHER, 2009). Assim como o baculovírus, os fungos entomopatogênicos são indicados como boas opções para o controle da lagarta-do-cartucho.

Metarhizium anisopliae Metsch-Sorokin (Bb42), isolado da lagarta-do-cartucho coletada em uma plantação de milho, foi testado contra lagartas de terceiro ínstar do mesmo inseto em laboratório e apresentou mortalidade de 96,6% (GARCÍA et al., 2011). Outros estudos demonstraram que espécies de *Metarhizium* foram eficientes no controle da lagarta-do-cartucho, com resultados semelhantes ao observado por produtos químicos (MUÑOZ et al. 2017; HERNANDEZ-TREJO et al., 2019). Espécies do gênero *Metarhizium* e *Beauveria* foram relatadas em diferentes estudos como opções promissoras para o controle da lagarta-do-cartucho (GUTIERREZ et al., 1995; SILVA et al., 2008; ROMERO-ARENAS et al., 2014; HAN et al., 2014; GRIJALBA et al., 2018).

2.1.3 *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae)

Dactylopius opuntiae Cockerell é um inseto Hemiptera da Família Dactylopiidae conhecido por cochonilha do carmim devido à produção de ácido carmínico, um corante vermelho escuro “carmim”, que está envolvido na proteção da cochonilha contra inimigos naturais (EISNER et al., 1994). Esse inseto vive em colônias compostas por milhares de indivíduos de idade mista (MORAN et al., 1987), cobertos por uma camada cerosa que lhes confere proteção contra fatores ambientais e inimigos naturais (Figura 5) (TORRES e GIORGI, 2018).

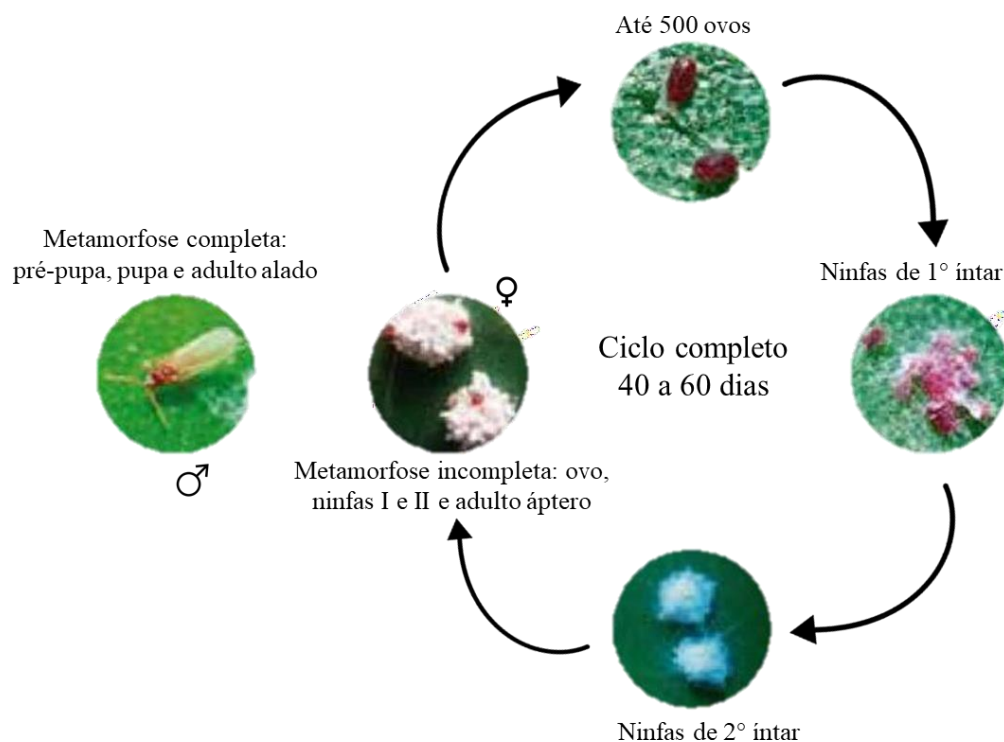
Figura 5 – Colônias de *Dactylopius opuntiae* em *Opuntia ficus-indica*



Fonte: Diniz, A.G. (2021).

A cochonilha do carmim se reproduz sexuadamente. Contudo, eventualmente pode reproduzir-se por partenogênese (FLORES-HERNÁNDEZ et al. 2006). O desenvolvimento difere conforme o sexo, em que fêmeas possuem metamorfose incompleta, passando pelos estágios de ovo, ninfas I e II e adulto áptero, sendo necessários 40 a 60 dias até atingirem a fase adulta (FLORES-HERNÁNDEZ et al., 2006). Ao atingirem a fase adulta, as fêmeas podem produzir até 500 ovos (SOUZA e HOFFMANN, 2015), e viver em média 40 a 50 dias a depender da temperatura (FLORES-HERNÁNDEZ et al., 2006). Ao contrário das fêmeas, os machos apresentam metamorfose completa e após passar pela ninfa de segundo ínstar entram nos estágios de pré-pupa, pupa e tornam-se adultos alados, vivendo apenas poucos dias (Figura 6) (DE LOTTO, 1974; MATHENGE et al., 2009).

Figura 6 – Ciclo de vida de *Dactylopius opuntiae*.



Fonte: https://www.researchgate.net/publication/327141678_COCHONILHA-DO_CARMIM_na_palma_forrageira/figures?lo=1 Imagem adaptado por Diniz A.G. (2021).

De hábito fitófago, a cochonilha do carmim parasita espécies de cactáceas dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, tendo preferência pela espécie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Caryophyllales: Cactaceae) (CHAVEZ-MORENO et al., 2009). As cochonilhas sugam a seiva vegetal, inoculam toxinas tornando a planta suscetível ao ataque de patógenos (BATISTA-LOPES et al., 2010), levando à queda dos frutos e clorose dos cladódios, que mais tarde necrosam favorecendo a morte do vegetal (WARUMBY et al., 2005).

Opuntia ficus-indica é uma planta xerófila, nativa do México, porém amplamente distribuída na América Central, América do Sul, Austrália e África do Sul (LEO et al., 2010). No Brasil, foi introduzida no período colonial para a criação da cochonilha *Dactylopius coccus* Costa (Hemiptera: Dactylopiidae), objetivando-se a produção do corante carmim (ALBUQUERQUE e SANTOS, 2005), contudo tal objetivo não foi alcançado e a palma tornou-se ornamental, sendo mais tarde utilizada como forragem animal, graças as suas características nutricionais e morfofisiológicas, adaptadas ao clima semiárido da Região Nordeste (LÓPEZ et al., 2006; ALVES et al., 2008; LIRA et al., 2016). Além da alimentação animal, os cladódios da palma forrageira passaram a ser utilizados na alimentação humana, bem como o fruto, conhecido por figo da índia que possui um sabor adocicado, sendo consumido *in natura*, desidratado, na forma de polpa ou suco concentrado (SÁENZ-HERNANDEZ, 2005).

Agricultores e pecuaristas que cultivam a palma forrageira têm perdas econômicas significativas, devido a ação de *D. opuntiae*, considerada uma das mais importantes pragas da cultura (Badii e Flores, 2001), que quando não controlada pode levar a perdas de até um quinto de áreas cultivadas (TORRES e GIORGI, 2018). De fácil disseminação, a cochonilha do carmim é encontrada na Região Nordeste do Brasil e em países como México, Chile, Bolívia, Peru, Austrália, Índia, África do Sul, França, Quênia, Madagascar, Paquistão, Sri Lanka, Estados Unidos (Califórnia e Texas), Israel, Marrocos, Líbano e no norte da Jordânia (FOXCROFT e HOFFMANN, 2000; PORTILLO e VIGUERAS, 2006; BEN-DOV et al., 2013; SPODEK et al., 2014; BOUHARROUD et al., 2016; MOUSSA et al., 2017; BADER e ABU-ALLOUSH, 2019).

No Brasil, os danos da cochonilha do carmim ocasionaram perdas de até 100.000 ha de áreas cultivadas com palmas, avaliadas em 25 milhões de dólares (LOPES et al., 2009). Enquanto no México, os danos da cochonilha sobre os frutos de *O. ficus-indica* levaram a um rendimento mais baixo e custos de produção mais altos (BADII e FLORES, 2001; PORTILLO e VIGUERAS, 2006). Em Marrocos, a cochonilha do carmim foi detectada no final de 2014, espalhando-se rapidamente, o que levou a uma intervenção emergencial por parte das autoridades locais, sendo recomendada a remoção e incineração de mais de 400 ha de palmas plantadas na região de Doukkala (OCHOA e BARBERA, 2017).

O controle de *D. opuntiae* é realizado principalmente por inseticidas organofosforados, que acarretam danos para o meio ambiente, afetando a saúde de homens e animais devido aos seus efeitos deletérios (BADII e FLORES, 2001; GALLOWAY e HANDY, 2003). Entretanto, a busca pela redução do controle químico levou à exploração de formas de controle menos agressivas, como a utilização de métodos mecânicos (SANTOS et al., 2006a; TORRES e GIORGI, 2018), o uso de sabão em pó e detergente neutro (MENEZES et al., 2004; BRITO et al., 2008), genótipos resistentes (SANTOS et al., 2006b, SILVA et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2009; LOPES et

al., 2010; BORGES et al., 2013), óleos minerais e vegetais (LOPES et al., 2009), extratos de plantas (LOPES et al., 2018), inimigos naturais (GAMA et al., 2016; HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ e CRUZ-RODRÍGUEZ, 2018; TORRES e GIORGI, 2018) e fungos entomopatogênicos (MAZZEO et al., 2019).

Fungos entomopatogênicos têm demonstrado grande potencial para o controle de *D. opuntiae*. A patogenicidade e virulência de dois isolados de *B. bassiana* (GHA, Bb1), *M. anisopliae* (Ma129, Ma130) e *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W. Gams (*Akanthomyces lecanii*) foram avaliadas nas concentrações de 10^6 , 10^7 , 10^8 e 10^9 contra ninfas de segundo ínstar de *D. opuntiae*. Os resultados demonstraram que nas quatro concentrações testadas, o isolado Ma130 de *M. anisopliae* apresentou maior eficácia no controle da cochonilha, com mortalidade corrigida variando de 17,5–87,5%. O segundo melhor isolado foi o 974 de *L. lecanii* (*A. lecanii*), com mortalidade corrigida variando de 17,5–72,5% (RAMÍREZ-SÁNCHEZ et al., 2019).

2.2 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS COMO AGENTES CONTROLADORES DE INSETOS-PRAGA

Os fungos entomopatogênicos constituem um grupo de grande interesse para o controle biológico de insetos-praga, atuando como parasitas facultativos ou obrigatórios, com grande capacidade de esporulação e sobrevivência (DELGADO e MURCIA, 2011). São organismos capazes de utilizar os insetos como hospedeiros para o desenvolvimento de pelo menos uma parte do seu ciclo de vida (DELGADO e MURCIA, 2011), reduzindo populações de insetos-praga a níveis de equilíbrio, com diminuição dos danos econômicos provocados por insetos de interesse agrícola, insetos sociais e vetores de doenças (TANZINI et al., 2001; SCHOLTE et al., 2004). Das estimadas 2,2 a 3,8 milhões de espécies fúngicas no mundo, cerca de 3.000 espécies são entomopatogênicas (HAWKSWORTH e LÜCKING, 2017). Para Lopez-Llorca e Hans-Börje (2001), os gêneros de maior importância no controle biológico são: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* e *Verticillium*, enquanto a FAO (2003) indica como gêneros de grande importância *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Fusarium* e *Rhizopus*.

A virulência de um fungo entomopatogênico envolve etapas como adesão, germinação, diferenciação e penetração. Cada uma dessas etapas sofre influência de fatores intrínsecos e externos que determinam a patogenicidade ao inseto (MAINA et al., 2018). A adesão do esporo ao inseto é mediada por moléculas sintetizadas pelo fungo, as chamadas adesinas. Um exemplo de adesina conhecida é a MAD1, localizada na superfície de conídios, descrita em *M. anisopliae*

(PAVA-RIPOLL et al., 2011). A germinação do conídio ocorre quando este encontra condições adequadas de umidade, temperatura e outros requisitos nutricionais químicos e físicos na cutícula, podendo assim produzir estruturas de penetração como os tubos germinativos, apressórios ou uma substância mucilagínosa que se liga para iniciar a formação do tubo germinativo, o qual penetra o inseto através dos poros ou camadas mais externas da epicutícula (SHAH e PELL, 2003).

Após aderir à cutícula, no final do tubo germinativo pode haver a formação de um apressório, estrutura que auxilia o fungo no processo infectivo do hospedeiro. Entretanto, em alguns Entomophthorales como *Conidiobolus obscurus* (Brefeld), *Pandora neoaphidis* (Remaudière and Hennebert), *Pandora blunckii* (Bose e Mehta) Humber, *Entomophthora planchoniana* (Cornu) e *Batkoa apiculata* (Thaxt.) Humber não há formação de apressório a penetração na cutícula do hospedeiro é feita somente pelo tubo germinativo (HAJEK e DELALIBERA, 2010). Ao penetrar a cutícula, a célula fúngica se prolifera na hemocele, músculos e outros tecidos do corpo do hospedeiro afetando o sistema imunológico do inseto, levando o indivíduo à morte (VEGA et al., 2012).

A maneira como o fungo entomopatogênico entra no inseto depende das propriedades cuticulares deste, como a esclerotização, a espessura e a presença de substâncias antifúngicas e nutricionais (CHARNLEY, 2003). Dessa forma, o rompimento da cutícula ocorre em decorrência de pressão mecânica (ZACHARUK, 1970; MORA et al., 2017) e enzimas degradadoras de cutícula, permitindo ao fungo a nutrição e eventual colonização do inseto (VEGA et al., 2012). As principais enzimas envolvidas no processo de degradação da cutícula do inseto são as quitinases, proteases e lipases (MONZÓN, 2001), sendo em alguns casos co-auxiliadas pela secreção de ácidos orgânicos como o ácido oxálico (KHACHATOURIANS, 1991). Contudo, além da cutícula, a invasão dos fungos pode ocorrer através de órgãos sensoriais, espiráculos e membranas intersegmentares (ST. LEGER et al., 1992).

Uma vez no interior do inseto, os fungos precisam superar os mecanismos de defesa do organismo para completar o processo infectivo. Para isso, sintetizam proteases que degradam o sistema imunológico humoral, e utilizam depsipeptídeos cíclicos, incluindo as destruxinas que provocam a paralisia do inseto em sua capacidade de abrir os canais de cálcio, e outras toxinas que danificam o sistema muscular e os túbulos de Malpighi, afetando a excreção e a capacidade de alimentação e movimentação (PAL et al., 2007; MORA et al., 2017). Por fim, a morte é resultado da combinação de efeitos como o dano físico dos tecidos, a toxicidade, a desidratação das células devido à perda de líquidos e o consumo de nutrientes (BUSTILLO, 2001).

A emergência do fungo para o exterior do inseto ocorre em condições de temperatura e umidade favoráveis. As hifas podem atravessar o tegumento do inseto a partir de áreas menos esclerotizadas, entretanto isso dependerá do hospedeiro e do estágio de desenvolvimento do mesmo.

Após externarem, as hifas podem permanecer na fase somática e iniciar o processo de esporulação dentro de 24 a 48 h, a depender da umidade e da síntese de antibióticos para prevenir o crescimento de organismos oportunistas (SRIVASTARA et al., 2009). Fatores ambientais controlam a produção de conídios, sobrevivência e germinação dos mesmos, influenciando no desenvolvimento de epizootias em campo (CARRUTHERS e SOPER, 1987; MORA et al., 2017).

A utilização de fungos entomopatogênicos no controle de insetos apresenta certas vantagens em relação ao controle químico, uma vez que não possuem efeitos adversos conhecidos no meio ambiente; são pouco ou não tóxicos para organismos não-alvos; se autoperpetuam em condições ambientais favoráveis; reduzem o uso de inseticidas químicos e em alguns casos podem ser utilizados em combinação com inseticidas químicos; e devido ao modo de ação único, o desenvolvimento de resistência é menos comum e mais lento. Limitações também são observadas, pois, são organismos que necessitam de condições ambientais específicas para germinar e causar infecção; têm vida útil curta; em alguns casos a produção para uso comercial pode ser cara; o inseto alvo deve estar presente no campo, antes que o patógeno possa ser utilmente aplicado, dificultando o tratamento preventivo; apresentam baixa persistência e taxa de infecção sob condições ambientais desafiadoras; e em alguns casos devido à ação lenta é exigida uma alta taxa de aplicação (MAINA et al., 2018).

O interesse por fungos entomopatogênicos no controle de insetos-praga vem aumentando substancialmente devido à conscientização ambiental, preocupações com a segurança alimentar e à falha de produtos químicos convencionais que acarretam um número cada vez maior de espécies resistentes a inseticidas (SHAHID et al., 2012). Dessa forma, diferentes formulações comerciais de fungos entomopatogênicos foram desenvolvidas para o controle de pragas agrícolas e urbanas. Entre as espécies de fungos utilizadas em formulações de micoinsecticidas estão *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. lecanii* (*A. lecanii*), *Hirsutella thompsonii* (Fischer), *Cladosporium oxysporium* (Berk. e Curt.) e *I. fumosorosea* (*C. fumosorosea*) (MAINA et al., 2018). No Brasil, os micoinsecticidas mais utilizados pertencem aos gêneros *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium* e *Sporothrix* (BARROS et al., 2010), e em escala mundial os micoinsecticidas mais comuns são à base de *B. bassiana* (33,9%), *M. anisopliae* (33,9%), *Lecanicillium* spp. (9,4%), *I. fumosorosea* (*C. fumosorosea*) (5,8%) e *B. brongniartii* (4,1%) (FARIA e WRAIGHT, 2007).

Os fungos entomopatogênicos infectam insetos de quase todas as ordens, sendo as mais comuns Hemiptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera e Hymenoptera (RAMANUJAM et al., 2014). Em algumas ordens de insetos, ninfas e larvas são mais suscetíveis do que adultos, enquanto em outras, o inverso pode ocorrer. Algumas espécies de fungos têm um número de hospedeiros reduzidos, como *Aschersonia aleyrodis* Webber e *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson,

enquanto outras, como *B. bassiana* e *M. anisopliae*, infectam mais de 700 espécies de várias ordens de insetos (MAINA et al., 2018).

De um modo geral, estas informações mostram o quanto os fungos entomopatogênicos podem ser eficientes como agentes biocontroladores de insetos, com resultados de controle satisfatórios para variadas pragas de diferentes culturas agrícolas.

2.3 CONTROLE DE INSETOS-PRAGA POR ISOLADOS DO COMPLEXO DE ESPÉCIES *Fusarium incarnatum-equiseti*

O Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) é um dos complexos mais ricos em espécies entomopatogênicas (SANTOS et al., 2020). Estudos envolvendo a patogenicidade de diferentes espécies desse complexo vêm sendo realizados contra insetos-praga de ordens como Thysanoptera (PANYASIRI et al., 2007), Diptera (MOHANTY et al., 2008), Lepidoptera (MUNSHI et al., 2008), Hymenoptera (WENDA-PIESIK et al., 2009), Coleoptera (SHARMA et al., 2012) e Hemiptera (CARNEIRO-LEÃO et al., 2017). Entretanto, os resultados mais promissores são observados para insetos da ordem Hemiptera (SANTOS et al., 2020).

Addario e Turchetti (2011) utilizaram diferentes espécies do FIESC contra *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) e observaram efeitos letais de 60–70%. A patogenicidade do FIESC contra *Matsucoccus matsumurae* Kuwana (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae), praga destrutiva dos pinheiros nativos da China, *Pinus tabulaeformis* Carr. e *Pinus massoniana* Lamb. foi avaliada por Liu et al. (2014), que relataram mortalidade de 53,67% para ninfas e 83% para fêmeas adultas. Carneiro-Leão et al. (2017), testaram em laboratório a patogenicidade de três espécies do Complexo *Fusarium incarnatum-equiseti*, sendo elas *F. sulawesiense* (FIESC 16), *F. pernambucanum* (FIESC 17) e *F. caatingaense* (FIESC 20), todas obtidas da cochonilha do carmim em diferentes municípios de Pernambuco. Os autores relataram mortalidade confirmada de 8–66,66% dos insetos. A partir dos testes de patogenicidade em laboratório, os autores selecionaram três isolados de *F. caatingaense* para serem avaliados contra a cochonilha no campo, e obtiveram mortalidade confirmada de 14–42,66%. Anwar et al. (2017), utilizaram diferentes concentrações de esporos de três isolados de *F. equiseti* e um isolado de *F. incarnatum* para testes de patogenicidade contra ninfas e adultos de *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). Após 144 horas a mortalidade acumulada observada para os isolados de *F. equiseti* foi de 100% para ninfas e de 0–20% para adultos, e para os isolados de *F. incarnatum* foi de 100% para ninfas e 0% para adultos.

Fan et al. (2014) avaliaram a patogenicidade de diferentes concentrações de esporos do isolado FIESC HEB01 contra *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae) e observaram a maior

taxa de mortalidade na concentração de $5,0 \times 10^7$ conídios/mL, com 91,33% dos insetos mortos. Além de testar a patogenicidade contra o inseto, os autores também avaliaram o risco do isolado causar doenças nas plantas hospedeiras, *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) e *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Baker (Asparagaceae), e relataram que o mesmo não infectou ou danificou as plantas, sendo considerado seguro para ambas as plantas. Ao testar a fitopatogenicidade de isolados de *F. caatingaense* (URM 6776, URM 6777, URM 6778, URM 6779, e URM 6782) contra milho (*Zea mays*) e feijões (*Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata* e *Phaseolus luningsatus*), Maciel et al. (2021) relataram a incapacidade dos isolados em causar doenças nas plantas testadas.

Segundo Teetor-Barsch e Roberts (1983), o uso de isolados de *Fusarium* entomopatogênicos no controle de insetos pode ser uma estratégia vantajosa, uma vez que alguns demonstraram especificidade ao hospedeiro, são facilmente cultivados em laboratório, sobrevivem bem como sapróbios nos solos, e é possível selecionar aqueles que não danificam plantas ou são micotoxigênicos fortes. Para O'Donnell et al. (2012), a utilização de *Fusarium* no controle de insetos é possível, desde que marcadores moleculares sejam utilizados para distinguir os isolados entomopatogênicos dos fitopatogênicos.

2.4 *Fusarium* COMO ENTOMOPATOGENO

Espécies de *Fusarium* são produtoras de micotoxinas, como a beauvericina, fusaproliferina, ácido fusárico, picolínico, dipicolínico, fusarinas e moniliformina, substâncias que estão relacionadas à capacidade dos fungos entomopatogênicos em causar a morte de insetos (CLAYDON e GROVE, 1982; TURNER e ALDRIDGE, 1983; BACON et al., 1996; LESLIE e SUMMERELL, 2006). *Fusarium* insetícola pode ser encontrado em diferentes associações com insetos, como em relações simbióticas, decompondo insetos como sapróbio, atuando como patógenos oportunistas, e em epizootias naturais atuando como entomopatógeno (SHARMA e MARQUES, 2018). Casos de epizootias naturais foram relatados para o gênero *Fusarium* em populações da cochonilha do carmim, em áreas afetadas na Paraíba e em Pernambuco (LONGO e RAPISARDA, 2001; SANTOS, 2009). Estudos envolvendo a associação com hospedeiros, caracterizações moleculares e morfologia supõem que o gênero *Fusarium* possui pelo menos 250 espécies distribuídas em 17 complexos de espécies (CROUS et al., 2021).

Diferentes espécies do gênero *Fusarium* têm demonstrado sua eficiência no controle de insetos-praga. Dois isolados de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg causaram 97 e 100% de mortalidade de *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) (TOSI et al., 2015). Um isolado de *Fusarium cf nygamai* foi obtido de larvas do gorgulho do melão *Acythopeus curvirostris* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), e quando testado contra este mesmo

inseto provocou mortalidade de 83% das larvas e 62% dos adultos, dez dias após sua aplicação (SEPASI et al., 2015). Isolados de *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc, *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc., *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. e *Fusarium* sp. foram testados contra ninfas e adultos de *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), e após 144 horas da aplicação dos isolados observou-se mortalidade de 100% das ninfas para todos os isolados testados (ANWAR et al., 2017). Isolados de *F. oxysporum* e *Fusarium fujikuroi* Nirenberg foram testados contra três espécies de insetos, *Planococcus ficus* Signoret (Hemiptera: Pseudococcidae), *Tenebrio molitor* Fabricius (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), e valores de mortalidade acima de 40% foram observados (SHARMA et al., 2018).

Embora *Fusarium* apresente um enorme potencial no controle de insetos, algumas espécies podem produzir toxinas capazes de contaminar alimentos e rações, causando intoxicações em humanos e animais (ANTONISSEN et al., 2014; O'DONNELL et al., 2018). Além disso, muitas espécies podem causar doenças em plantas (KVAS et al., 2009; SUMMERELL e LESLIE, 2011). Apesar dos efeitos negativos, alguns estudos demonstram altas taxas de mortalidade e especificidade ao hospedeiro, e a não fitopatogenicidade a culturas agrícolas (KURUVILLA e JACOB 1980; NAGALINGAM e JAYARAJ 1986; MIKUNTHAN e MANJUNATHA 2006; WENDA-PIESIK et al., 2009; LAZO, 2012; SANTOS et al., 2020; MACIEL et al., 2021). Assim, o uso de *Fusarium* no controle biológico de insetos é possível, desde que estudos aprofundados sejam realizados, garantindo não só a sua eficácia mais também a segurança na aplicação contra insetos-praga.

2.5 EXTRATOS VEGETAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE INSETOS-PRAGA

Diversas espécies de plantas produzem substâncias bioativas com ações inseticidas, sendo conhecidas cerca de 2.000 espécies vegetais com propriedades capazes de controlar insetos-praga (MENEZES-AGUIAR, 2005). Alcalóides, terpenóides, flavonóides e quinonas são alguns dos vários metabólitos secundários com propriedades inseticidas (POTENZA et al., 2004; SILVA et al., 2012). Estes compostos podem provocar efeitos de repelência, esterilidade e inibição de oviposição, assim como deformações, redução na alimentação e alterações no sistema hormonal, tendo como consequências distúrbios no desenvolvimento e comportamento (SILVA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2014). De acordo com Roel (2001), os efeitos dos extratos vegetais sobre insetos dependem da dose utilizada, de maneira que doses maiores podem levar à morte de insetos, enquanto a aplicação de doses menores pode acarretar em efeitos menos intensos e mais duradouros.

Segundo Kabera et al. (2011), os efeitos dos inseticidas botânicos são observados tanto por contato quanto por ingestão. Quando atuam por contato, estes agem e são absorvidas pela quitina e exoesqueleto ou pelas vias respiratórias atuando no sistema nervoso central, provocando a morte do inseto alvo (LIMA et al., 2009; CORRÊA e SALGADO, 2011). Substâncias com ação repelente atuam principalmente por contato, agindo nos quimiorreceptores dos insetos e afetando o seu comportamento (CORRÊA e SALGADO, 2011). As substâncias que atuam por ingestão, têm como porta de entrada a via oral, podendo afetar a capacidade de digestão, a biossíntese de hormônios ou a formação da camada de quitina da cutícula do inseto (BEGUM et al., 2010).

A obtenção de inseticidas botânicos ocorre a partir da extração de compostos presentes no metabolismo secundário das plantas, geralmente acumulados nos tecidos vegetais (VIEGAS-JÚNIOR, 2005; MOREIRA et al., 2006), podendo ser encontrados em raízes, caules, folhas, sementes e frutos (BARBOSA et al., 2006), sendo as folhas a parte vegetal mais utilizada para a obtenção de extratos de plantas, possibilitando a conservação do recurso vegetal, sem interferir na reprodução da planta (PILLA et al., 2006). Contudo, a extração dos compostos bioativos deve ser feita com bastante cuidado, utilizando-se o método de extração mais adequado. A trituração e a maceração geralmente são processos que não alteram a composição química do material vegetal. Métodos que envolvem a aplicação de calor devem ser utilizados apenas quando as substâncias ativas não são termossensíveis (ESCALONA et al., 1998; BARBOSA et al., 2006).

Os inseticidas botânicos são alternativas de controle vantajosas em relação aos agroquímicos. Estes apresentam baixo custo, são menos concentrados e, portanto, menos tóxicos em relação aos compostos puros, são biodegradáveis e apresentam diferentes modos de ação. Além de possuírem origem a partir de fontes renováveis, ferecerem menores chances de resistência a insetos-pragas (MENEZES-AGUIAR, 2005; MENDES et al., 2017). Dessa forma, diversas espécies vegetais têm sido estudadas quanto ao seu potencial no controle de insetos-praga, por exemplo, *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) e *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), ambas de ampla distribuição, encontradas em regiões tropicais e subtropicais (BORGES et al., 2007; MORAES, 2014).

Ricinus communis, conhecida por mamona, possui propriedades inseticidas em diferentes partes da planta como raízes, caules, folhas e sementes (RODRIGUES et al., 2002; MENEZES-AGUIAR, 2005; LIMA et al., 2015). Estudos com partes aéreas dessa planta constataram a presença de constituintes ativos como ricina, ricinina, N-desmetilricinina e flavonóides (SKURSKY et al., 1969; KANG et al., 1985). De acordo com Singh e Kaur (2016), a ricina é um dos componentes bioativos mais tóxicos presente nas sementes, contudo a ricinina, de ação inseticida eficaz, está localizada em todas as partes da planta. Efeitos tóxicos de extratos e óleos de *R. communis* foram

relatados contra diferentes espécies de artrópodes (RAMOS-LÓPEZ et al., 2010; CAMARGO et al., 2012) incluindo carrapatos (SAMPIERI et al., 2013; SANTOS et al., 2018).

Rossi et al. (2012), ao avaliarem diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas de mamona adicionadas à dieta artificial de *S. frugiperda*, relataram ação tóxica contra lagartas e pupa, que tiveram o ganho de peso reduzido, sendo observada mortalidade acumulada de 90% das lagartas no início do seu desenvolvimento. O extrato etanólico de *R. communis* a 95% foi altamente eficaz contra o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini (Acarina: Ixodidae), interferindo na fisiologia reprodutiva dos carrapatos e inibindo a oviposição (GHOSH, et al., 2013). O efeito larvicida do extrato da folha e do óleo do fruto de *R. communis* foi observado contra *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) por Neves et al. (2014), que relataram 100% de mortalidade das larvas. Tal efeito, também foi observado por Basheer (2014), contra larvas de *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae), ao utilizar o extrato de acetato de etila da folha de mamona, observando-se mortalidade de 96% das larvas após 24 horas com um LC50 a 0,390 mg/L e de 100% após 48 horas com LC50 a 0,284 mg/L. A ação inseticida do extrato de folhas de *R. communis* também foi observada para *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) (Upsani et al., 2003), *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) (TINZARRA et al., 2006) e *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (EL-KASSEM BOSLY, 2017)

Nicotiana tabacum é uma espécie vegetal conhecida como fumo, que tem como um dos seus princípios ativos a toxina orgânica nicotina, a qual atua sobre o sistema nervoso de insetos após a respiração, ingestão ou contato simples (BRECHELT, 2004). O seu potencial como agente controlador de diferentes espécies de insetos vem sendo relatado na literatura. Sagheer et al. (2013) avaliaram o efeito de repelência do extrato de acetona de *N. tabacum* contra adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) e relataram mortalidade de 93,33% dos insetos. Efeito entomotóxico de extratos das sementes de *N. tabacum*, obtidos a partir de diferentes solventes, foi observado contra *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae), causando mortalidade de 100% quando os extratos foram preparados com éter e n-hexano e de 80%, 85,20% e 70,15%, quando preparados com os solventes metanol, etanol e acetona, respectivamente (OBEMBE e OGUNGBITE, 2016). Os extratos do pó das folhas de *N. tabacum* preparados com os solventes clorofórmio e acetona causaram 100% de mortalidade de *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Brentidae) após 72 horas de sua aplicação (LOKESH et al., 2017).

O potencial do extrato de *N. tabacum* também foi relatado contra *Grapholita molesta* Busck (Lepidoptera: Tortricidae) com mortalidade corrigida de 92% (SARKER e LIM, 2018). A eficácia do extrato de folhas de *N. tabacum* foi demonstrada contra larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), com respectivos valores de CL50 de 0,09, 0,03 e 0,01% após 24, 48 e 72 horas de exposição (RAVEEN et al., 2019).

O uso de inseticidas botânicos é uma alternativa para o controle de insetos-praga, podendo ser empregado no Manejo Integrado de Pragas e em sistemas de cultivos orgânicos. Estudos contínuos com extratos vegetais contra diferentes insetos-praga, principalmente em condições de campo, são necessários e podem proporcionar mais opções de controle para o agricultor (ZANARDI et al., 2015; RIBEIRO et al., 2016).

2.6 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS COMBINADOS A EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE INSETOS-PRAGA

A combinação de agentes controladores é uma alternativa promissora, que vem sendo estudada como opção para a redução do uso de químicos, no controle de insetos-praga (SILVA, et al., 2005). Fungos entomopatogênicos e extratos vegetais são agentes de controle que podem ser combinados, sendo interessante que estes, quando combinados, apresentem efeito sinérgico ou neutro para que a ação do patógeno não seja comprometida (HIROSE et al., 2001, OLIVEIRA et al., 2003). Se os fungos entomopatogênicos utilizados forem incompatíveis com os extratos vegetais, estes podem inibir o desenvolvimento e a reprodução dos patógenos fúngicos, interferindo no controle de insetos-praga (ANDERSON e ROBERTS 1983; BORGIO et al., 2008).

Quando compatíveis, os agentes controladores aplicados simultaneamente podem ter sua ação contra insetos potencializada (LANDA e BOHATA, 1999; FILOTAS et al., 2005). Tal estratégia de controle é de grande importância em programas de Manejo Integrado de Pragas (ANDERSON e ROBERTS 1983; BORGIO et al., 2008). Segundo Paula et al. (2011), estratégias de controle que envolvem a combinação de fungos entomopatogênicos e extratos vegetais têm sua eficácia associada à ação do extrato vegetal sobre o inseto, uma vez que os extratos vegetais podem atuar como agentes estressores fisiológicos de insetos, alterando o comportamento e tornando-os suscetíveis ao fungo.

O potencial da combinação de extratos vegetais a diferentes espécies fúngicas foi demonstrado para larvas de terceiro ínstar de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), sendo *B. bassiana* Bb-01 (LC40) + *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) (LC40) a combinação responsável pela mortalidade de 68,3% das larvas, superior ao observado nos demais tratamentos (SHOUKAT et al., 2016). *Beauveria bassiana*, *M. anisopliae* e *I. fumosorosea* (= *C. fumosorosea*) foram avaliados individualmente e em combinação com diferentes extratos de plantas no controle da mosca doméstica *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). O maior percentual de mortalidade observada foi de 92,5%, para o tratamento com *B. bassiana* (Bb-01) (LC40) + de *Acacia nilotica* (Fabaceae) (LC40), seguido de *M. anisopliae* (Ma-4. 1) (LC40) + de *A. indica* (LC40), que ocasionou a mortalidade de 85% dos insetos (AHMAD et al., 2017). A combinação do extrato de *Eucalyptus*

camaldulensis Dehnh (Myrtaceae) e *B. bassiana* foi testada contra o pulgão do trigo *Sitobion avenae* Fabricius (Hemiptera: Aphididae) e, após cinco dias da aplicação dos agentes combinados, a mortalidade observada foi de 87% (ALI et al., 2018). *Fusarium volatile* (URM 8051) e *F. proliferatum* (URM 8044) combinados ao extrato aquoso de *R. communis* a 5% testados contra *Alerocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), provocaram a mortalidade de 98,2 e 97,7% dos insetos respectivamente (BARBOSA et al., 2021).

A combinação de isolados de *F. caatingaense* (= FIESC 20) a diferentes extratos vegetais, vem sendo estudada como opção para o controle da cochonilha do carmim. Santos et al. (2016), relataram o efeito inseticida do isolado URM 6778 de *F. caatingaense* combinado ao extrato aquoso de *R. communis* contra *D. opuntiae*, que apresentou mortalidade corrigida de 100% dos insetos. Os isolados URM 6779 e URM 6777 de *F. caatingaense* ambos combinados ao extrato aquoso de *Enterolobium contortisiliquum* Vell. Morong (Fabaceae) a 5 % foram testados contra a cochonilha do carmim, ocasionando mortalidade de 73,64% e 70,34% dos insetos respectivamente, sendo superior ao observado pela ação individual dos fungos (VELEZ et al., 2019). A combinação dos isolados URM 6778 e URM 6779 de *F. caatingaense* com extrato aquoso de *N. tabacum* a 5% e 10%, respectivamente, provocou um aumento na mortalidade da cochonilha do carmim, superior ao observado pela aplicação individual de ambos os agentes controladores. A combinação do isolado URM 6779 ao extrato aquoso de *N. tabacum* a 10% foi testada em casa de vegetação e ocasionou 98,67% de mortalidade contra a cochonilha do carmim (DINIZ et al., 2020).

Pesquisas envolvendo a avaliação do efeito combinado de extratos vegetais a fungos entomopatogênicos no controle da cochonilha do carmim são escassas. Os resultados observados nos estudos de Santos et al. (2016), Velez et al. (2019) e Diniz et al. (2020), demonstraram que a utilização conjunta de isolados de *F. caatingaense* a diferentes extratos vegetais podem ser opções de controle viáveis. Contudo, para confirmar a eficácia de tais agentes controladores, testes em campo contra a cochonilha do carmim são necessários.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 FUNGOS

Para os experimentos contra *N. corniger* e *S. frugiperda* foram utilizados 27 isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti*, sendo quatro de *F. sulawesiense* (URM 6808, URM 7555, URM 7558, URM 7560), seis de *F. pernambucanum* (URM 6810, URM 7554, URM 7556, URM 7557, URM 7559, URM 7561) e dezessete de *F. caatingaense* (URM 6792, URM 6779, URM 6776, URM 6777, URM 6803, URM 6804, URM 6793, URM 6783, URM 6779, URM 6784, URM 6802, URM 6807, URM 6781, URM 6806, URM 6811, URM 6785, URM

6788). A maioria dos isolados de *F. sulawesiense* e *F. pernambucanum* foi obtida de adultos de *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) coletados de folhas de citros na região da Zona da Mata no estado de Pernambuco (BARBOSA et al., 2021). Os isolados URM 6808 de *F. sulawesiense*, URM 6810 de *F. pernambucanum* e todos os isolados de *F. caatingaense* foram obtidos de adultos de *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae), coletados em diferentes municípios da região semiárida do mesmo estado no Brasil (CANEIRO-LEÃO et al., 2017). Todos os isolados estão depositados na Coleção de Cultura URM (University Recife Mycology) (WFCC N°604), na Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil (Tabela 1).

Para os experimentos contra *D. opuntiae* foram utilizados os isolados URM 6778 e URM 6779 de *F. caatingaense*, combinados aos extratos aquosos de *R. communis* a 5% e *N. tabacum* a 10% respectivamente. Como forma de garantir a viabilidade e virulência de todos os isolados fúngicos utilizados no estudo, estes foram revigorados de acordo com a metodologia de Alves (1998), utilizando o cupim *N. corniger* como insetos hospedeiro.

Tabela 1 – Hospedeiros de origem e números de acesso da sequência de DNA dos isolados do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum equiseti* (FIESC) usados no estudo

Espécies	Linhagens	Código de depósito	Hospedeiros	Numero de acesso das sequências TEF1
<i>Fusarium sulawense</i>	(FIESC 16)	URM 6808	<i>Dactylopius opuntiae</i>	-
<i>Fusarium sulawense</i>	(FIESC 16)	URM 7558	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	MW486169
<i>Fusarium sulawense</i>	(FIESC 16)	URM 7555	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	MW486168
<i>Fusarium sulawense</i>	(FIESC 16)	URM 7560	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	MW486170
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	*URM 7559	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398489
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7557	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398488
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 6810	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398485
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7561	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398490
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7554	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398486
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7556	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398487
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6776	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398463
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6788	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398491
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6803	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398476
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6777	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398464
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6811	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398482
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6804	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398477
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6785	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398471
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6807	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398480
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6793	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398474
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	*URM 6779	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398466
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6792	<i>Dactylopius opuntiae</i>	-
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6784	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398470
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6781	<i>Dactylopius opuntiae</i>	-
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	UMR 6802	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398475
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6778	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398465
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6806	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398479
<i>Fusarium caatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6783	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398469

(*) = ex-tipo

3.2 COLETA DE *Nasutitermes corniger*

A coleta de soldados e operários de *N. corniger* foi feita com o auxílio de pinças utilizadas para fragmentar os túneis de forrageamento e ter acesso aos cupins, que foram retirados com pincéis de cerdas macias e colocados em placas de Petri esterilizadas. A coleta foi feita em diferentes árvores do Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e os cupins foram levados para o laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores, localizado no Centro de Biociências da UFPE, onde os bioensaios foram conduzidos.

3.3 TESTE DE PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DO COMPLEXO *Fusarium incarnatum-equiseti* CONTRA *Nasutitermes corniger*

Os vinte e sete isolados foram distribuídos em três bioensaios: o primeiro com 11 tratamentos [10 fungos (*F. sulawesiense* e *F. pernambucanum*) + controle], o segundo com 10 tratamentos [9 fungos (*F. caatingaense*) + controle] e o terceiro com 9 tratamentos [8 fungos (*F. caatingaense*) + controle]. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados em esquema de parcelas subdivididas no tempo (1, 2, 3, 4 e 5 dias de sobrevivência), sendo os isolados dispostos nas parcelas e os dias de avaliação nas subparcelas, com três repetições. Em cada repetição dos tratamentos foram utilizadas cinco placas de Petri, cada uma com 15 insetos, totalizando 75 insetos.

Os fungos foram cultivados em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e após oito dias de crescimento suspensões de 1×10^7 conídios/mL foram preparadas e 1 mL das suspensões de cada isolado foi aplicado sobre os insetos com o auxílio de um pulverizador manual. Para o controle, aplicou-se apenas solução Tween 80 (0,01%). Após, os insetos foram transferidos com um pincel para placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada esterilizada e um pedaço de papel madeira. Os insetos foram mantidos em ambiente climatizado a $24 \pm 3^\circ\text{C}$ no escuro. A mortalidade foi avaliada diariamente durante cinco dias e os insetos mortos transferidos para câmara úmida mantidas em BOD ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), para a confirmação do agente causal (JESSICA et al., 2019). A viabilidade dos conídios de cada isolado foi avaliada a partir do inóculo de 50 µL de uma suspensão de 1×10^7 conídios/mL em meio BDA (três repetições), seguido de incubação em BOD. Após 14 horas foi realizada a contagem de 200 conídios por repetição, verificando a quantidade de conídios germinados e não germinados em microscópio óptico (ALVES et al., 1998).

3.4 CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE *Spodoptera frugiperda*

Para iniciar a criação da *S. frugiperda*, pupas e lagartas de terceiro ínstar foram adquiridas no laboratório de Fisiologia de insetos na Universidade Federal Rural de Pernambuco e levadas para o laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores localizado no Centro de Biociências da UFPE. As lagartas foram mantidas em recipientes plásticos com tampa vazada fechada com tecido voil e alimentadas com dieta artificial até a fase de pupa (Greene et al., 1976). Ao atingirem a fase de pupa, as lagartas foram acondicionadas em recipientes plásticos de 15 cm de largura e 9 cm de altura com tampa vazada fechada com tecido voil até a emergência dos adultos. Após emergirem, dez casais de *S. frugiperda* foram transferidos para gaiolas confeccionadas com tubos de PVC de 15 cm de diâmetro e 20 cm de altura, fechado em uma de suas extremidades com filme plástico e as paredes revestidas com folha de papel ofício. Para a alimentação dos adultos foi utilizada uma solução de mel a 10% embebida em algodão colocada dentro de um recipiente plástico com 2,5 cm de largura e 2 cm de altura, sendo renovado diariamente para evitar a contaminação e fermentação. As massas de ovos depositadas no papel filme e na folha de ofício foram recortados e acondicionados em recipientes plásticos com dieta artificial até a eclosão das lagartas (RODRIGUES et al., 2018).

3.5 TESTE DE PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DO COMPLEXO *Fusarium incarnatum-equiseti* CONTRA *Spodoptera frugiperda*

Os testes de patogenicidade contra *S. frugiperda* foram realizados por meio de três bioensaios contendo os mesmos isolados testados contra *N. corniger*. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados em esquema de parcelas subdivididas no tempo com 8 dias de avaliação, sendo os isolados dispostos nas parcelas e os dias de avaliação nas subparcelas, com três repetições. Em cada repetição dos tratamentos foram utilizados cinco insetos.

Suspensões de 1×10^7 conídios/mL foram obtidas a partir de cada um dos isolados com crescimento micelial de oito dias. Para o controle utilizou-se água + tween 80 (0,01%). As suspensões de esporos fúngicos e o controle foram pulverizados em um volume de 800µl sobre as lagartas de terceiro ínstar em placas de Petri. Após pulverização, as lagartas foram individualizadas e transferidas com uma pinça para tubos de ensaio contendo dieta artificial, e tamponados com algodão hidrofóbico, sendo mantidas em ambiente climatizado ($26 \pm 1^\circ\text{C}$). A viabilidade dos isolados nos bioensaios com *S. frugiperda* também foi avaliada, conforme descrito no tópico 4.3.

3.6 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS AQUOSOS DE *Ricinus communis* E *Nicotiana tabacum* E ANÁLISE FITOQUÍMICA

Para a obtenção do extrato aquoso de *R. communis*, folhas foram secas em casa de vegetação a temperatura ambiente por oito dias. Após a secagem, o material vegetal foi moído em um triturador tipo Willey TE-680. O pó vegetal obtido foi utilizado para preparar o extrato na concentração inicial de 30% (p/v), suspendendo 300 g do pó em 1 L de água destilada fervente (100 °C) por 2 h, sem agitação (CELOTO, 2008). O extrato aquoso de *N. tabacum* também foi preparado na concentração de 30% (p/v), seguindo a mesma metodologia, no entanto, utilizou-se 300 g de *N. tabacum* em sua forma comercial (fumo de rolo), sem trituração. Em seguida, os extratos obtidos foram filtrados e esterilizados em vapor fluente por 15 minutos e diluídos nas concentrações de trabalho 5% e 10% respectivamente.

Para a triagem fitoquímica, aproximadamente 3 mL de n-hexano foram adicionados aos tubos de ensaio contendo as diferentes concentrações do extrato liofilizado. Os tubos foram agitados com vórtex durante 1-2 minutos e centrifugados a 3000 rpm durante 10 minutos. Frações de hexano e precipitados foram submetidos à Cromatografia de Camada Delgada (CCD) para detecção de cumarinas, flavonóides, taninos e terpenos (WAGNER e BLADT, 2009). A presença de alcalóides foi investigada a partir de testes de precipitação com reagente de Dragendorff. Para as saponinas, os precipitados foram solubilizados em água e agitados vigorosamente durante 15 segundos. O aparecimento persistente de espuma com duração de pelo menos 15 minutos confirma a presença de saponinas (AMROUCHE et al., 2014).

3.7 EFEITO DO USO COMBINADO DE *Fusarium caatingaense* COM EXTRATOS DE *Ricinus communis* E *Nicotiana tabacum* NO CONTROLE DE *Dactylopius opuntiae* NO CAMPO

O experimento no campo foi realizado na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) localizada na cidade de Arcoverde, Pernambuco, nos meses de dezembro (tempo 1) de 2020, janeiro (tempo 2) e fevereiro (tempo 3) de 2021. Durante o andamento dos experimentos a precipitação foi zero e a umidade do ar foi de 10%, 30% e 10%, respectivamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo com tipos os tipos de tratamento e controle [URM 6778, URM 6779, extrato aquoso de *R. communis* a 5%, extrato aquoso de *N. tabacum* a 10%, URM 6778 + extrato aquoso de *R. communis* a 5%, URM 6779 + extrato aquoso de *N. tabacum* a 10%, detergente a 2% e o controle (água destilada esterilizada contendo apenas Tween 80 a 0,01%)] dispostos nas parcelas e os tempo de avaliação nas subparcelas (tempos 1, 2 e 3), com três repetições. Em cada repetição, três cladódios de plantas distintas foram analisados.

Para realização do experimento, palmas foram plantadas em parcelas constituídas por quatro fileiras de três metros e meio de comprimento, com espaçamento de um metro entre elas e 0,5m

entre as plantas. A área útil foi formada pelas duas fileiras centrais, onde foram realizadas as observações programadas. As palmas foram infestadas com ninfas da cochonilha e após 45 dias da infestação, estavam prontas para uso.

Os isolados foram cultivados em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e incubados em BOD ($26 \pm 1^\circ\text{C}$) durante oito dias, visando obter suspensões de conídios para o crescimento em arroz. Grãos de arroz foram esterilizados em frascos Erlenmeyer (100 g de arroz / 50 mL de água destilada) à temperatura de 121°C por 30 minutos. Após o crescimento dos fungos no arroz, suspensões de 1×10^7 conídios/mL foram preparadas para utilização no experimento no campo. A produção de conídios por grama de arroz e a pureza dos isolados levados a campo foi avaliada (ALVES, 1986).

No campo, um total de 20mL de cada um dos tratamentos foram pulverizados sobre os insetos, com um pulverizador manual em três cladódios de plantas distintas. O detergente neutro a 2% foi aplicado antes dos tratamentos com o intuito de reduzir a quantidade de cera presente nas cochonilhas e facilitar o contato dos fungos/extratos com o tegumento do inseto. O detergente neutro a 2% também foi considerado um tipo de controle. A aplicação dos tratamentos ocorreu no final da tarde, sendo iniciada a partir das 14h. Após 10 dias da aplicação, os cladódios foram coletados e levados ao laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores, localizado no departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco. A mortalidade total foi avaliada em estereomicroscópio, observando-se a quantidade de insetos mortos e vivos, os quais foram diferenciados por características como coloração e turgidez. Foram avaliados um total de 180 insetos por tratamento, sendo 60 insetos por cladódio, os quais foram contabilizados em três quadrantes de 8cm^2 , 20 insetos por quadrante. A mortalidade corrigida foi calculada a partir dos dados de mortalidade total, por meio da fórmula de Schneider-Orelli (PÜNTENER, 1981). A mortalidade confirmada foi avaliada por desinfecção superficial de insetos em álcool 70% por 30 segundos, solução de hipoclorito de sódio 4% por 45 segundos, seguido de três lavagens em água destilada esterilizada. Em seguida, os insetos foram transferidos para placas de Petri com meio ágar água + Cloranfenicol (0,05%) e incubados em BOD a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ por sete dias. A confirmação do agente causal da mortalidade foi verificada pela observação em microscópio óptico de lâminas preparadas a partir das estruturas fúngicas crescidas dos corpos dos insetos.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de mortalidade acumulada confirmada de *N. corniger*, obtidos ao quinto dia após a aplicação dos fungos, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando o software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011). Os valores de mortalidade acumulada confirmada de *N. corniger* causada por cada isolado de

F. sulawesiense, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* ao longo do tempo de avaliação foram submetidos a análise de regressão linear ou quadrática polinomial ($p < 0,05$), de modo que o modelo escolhido foi aquele que melhor se adequou aos dados obtidos. O Programa utilizado para a análise de regressão foi o Statistix 10.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

Os dados de mortalidade corrigida de *D. opuntiae*, obtidos de experimentos no campo, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011). As interações dos agentes de controle combinados foram avaliadas aplicando os dados de mortalidade à fórmula descrita por Koppenhöfer et al. (2000) da seguinte forma:

$$\chi^2 = \frac{(M_{FExt} - M_{Esp})^2}{M_{Esp}}$$

onde:

M_{FExt} = mortalidade causada pela combinação do fungo com o extrato;

M_{Esp} = mortalidade esperada.

$$M_E = M_{Ext} \left(\frac{1 - M_F}{100} \right) + M_F$$

onde:

M_F = mortalidade causada pelo fungo;

M_{Ext} = mortalidade causada pela exposição ao extrato.

Quando o valor calculado do χ^2 excedeu o valor da tabela (3,84 para um grau de liberdade, $p < 0,05$), as interações entre os agentes de controle são consideradas não-aditivas sinérgicas ou antagônicas (FINNEY, 1964). As interações são consideradas:

Interação sinérgica $\Leftrightarrow D = (M_{FExt} - M_E) > 0$

Interação significativamente antagônica $\Leftrightarrow D = (M_{FExt} - M_E) < 0$

D é considerado significativo em $p < 0,05$. Se o teste do χ^2 não for significativo, os efeitos são considerados aditivos.

4 RESULTADOS

4.1 PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE ESPÉCIES DO COMPLEXO *Fusarium incarnatum-equiseti* CONTRA *Nasutitermes corniger* E *Spodoptera frugiperda*

Os conídios dos isolados de *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* utilizados nos testes de patogenicidade contra *N. corniger* e *S. frugiperda* apresentaram taxas de germinação superiores a 90%. Não foi possível estabelecer nenhuma co-relação entre a virulência dos isolados fúngicos e a sua taxa de viabilidade.

As espécies de *Fusarium* testadas contra *S. frugiperda* não foram patogênicas a esse inseto. As lagartas inoculadas com os fungos continuaram se alimentando e se desenvolvendo, não sendo observados insetos mortos mesmo após o oitavo dia de avaliação.

O teste de patogenicidade evidenciou diferentes picos de mortalidade diária confirmada de *N. corniger* ao longo dos cinco dias de avaliação, variando conforme o isolado e espécie testada. Dois isolados de *F. sulawesiense* apresentaram picos de mortalidade confirmada no segundo e terceiro dias, o isolado URM 7560 (32,44%) e o isolado URM 7555 (31,11%) respectivamente. Para a maioria dos isolados de *F. pernambucanum*, os picos de mortalidade diária ocorreram entre o segundo e terceiro dia, destacando-se o isolado URM 7556 que no terceiro dia causou mortalidade confirmada de 45,78% dos cupins testados. Os isolados de *F. caatingaense* causaram mortalidade mais lenta dos cupins, com picos de mortalidade confirmada principalmente no quarto dia, sendo o maior pico observado para URM 6781 (37,33%). No controle, os insetos não apresentaram o desenvolvimento de fungos (0% de mortalidade confirmada) em nenhum dos bioensaios (Tabela 2).

Tabela 2 – Mortalidade diária confirmada (percentual médio $\pm$ desvio padrão D.P.) de *Nasutitermes corniger*, ao longo de cinco dias de avaliação após a aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (*Fusarium sulawesiense*, *Fusarium pernambucanum* e *Fusarium caatingaense*).

<i>Fusarium sulawesiense</i>					
	1 Dia	2 Dias	3 Dias	4 Dias	5 Dias
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
URM 6808	1,78 $\pm$ 2,30	9,33 $\pm$ 3,00	10,22 $\pm$ 6,65	10,67 $\pm$ 2,00	6,22 $\pm$ 4,72
URM 7558	1,78 $\pm$ 1,15	17,33 $\pm$ 11,35	24,89 $\pm$ 14,18	15,11 $\pm$ 2,30	5,78 $\pm$ 3,05
URM 7555	1,33 $\pm$ 1,00	18,67 $\pm$ 10,58	31,11 $\pm$ 17,09	20,44 $\pm$ 6,35	11,11 $\pm$ 10,21
URM 7560	6,67 $\pm$ 7,00	32,44 $\pm$ 14,57	26,67 $\pm$ 15,52	10,67 $\pm$ 6,24	12,44 $\pm$ 13,57
<i>Fusarium pernambucanum</i>					
	1 Dia	2 Dias	3 Dias	4 Dias	5 Dias
Controle	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
URM 7559	0,89 $\pm$ 0,57	20,00 $\pm$ 13,85	19,11 $\pm$ 8,08	19,11 $\pm$ 6,65	7,56 $\pm$ 3,78
URM 7557	4,89 $\pm$ 1,15	17,33 $\pm$ 18,35	25,33 $\pm$ 13,52	11,56 $\pm$ 3,21	12,00 $\pm$ 12,16
URM 6810	4,00 $\pm$ 3,00	20,44 $\pm$ 3,51	23,11 $\pm$ 3,05	9,33 $\pm$ 1,73	15,11 $\pm$ 4,04
URM 7561	1,33 $\pm$ 1,73	23,11 $\pm$ 12,70	33,78 $\pm$ 14,57	8,89 $\pm$ 1,52	6,67 $\pm$ 5,56

URM 7554	4,44 ± 4,04	30,67 ± 7,54	32,00 ± 14,10	11,11 ± 11,10	10,67 ± 10,39
URM 7556	4,00 ± 1,00	27,56 ± 11,50	45,78 ± 9,51	12,00 ± 7,81	6,67 ± 6,24
<i>Fusarium caatingaense</i>					
	1 Dia	2 Dias	3 Dias	4 Dias	5 Dias
Controle	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
URM 6776	3,11 ± 0,57	8,89 ± 3,51	12,44 ± 11,01	11,56 ± 3,05	12,44 ± 8,08
URM 6788	2,22 ± 2,08	4,44 ± 0,57	10,67 ± 5,29	25,33 ± 14,93	6,22 ± 5,50
URM 6803	1,33 ± 1,00	9,33 ± 10,44	17,33 ± 10,58	16,44 ± 6,65	6,67 ± 4,00
URM 6777	12,00 ± 8,66	6,67 ± 4,58	13,78 ± 5,85	18,67 ± 8,71	4,00 ± 3,00
URM 6811	1,78 ± 0,57	4,44 ± 2,08	19,11 ± 11,15	27,56 ± 6,80	9,78 ± 6,11
URM 6804	3,56 ± 2,51	7,11 ± 3,78	12,89 ± 5,13	25,33 ± 3,00	13,78 ± 3,05
URM 6785	4,89 ± 4,04	16,00 ± 4,58	12,89 ± 6,65	18,67 ± 4,00	10,67 ± 4,58
URM 6807	0,89 ± 1,15	5,78 ± 1,52	12,89 ± 6,02	33,78 ± 12,09	11,11 ± 5,50
URM 6793	4,89 ± 4,04	13,33 ± 6,92	12,44 ± 7,50	19,11 ± 6,11	15,56 ± 3,05
URM 6779	4,44 ± 4,51	11,56 ± 1,52	14,22 ± 4,72	24,89 ± 5,50	10,67 ± 0,00
URM 6792	8,44 ± 4,50	17,33 ± 3,60	12,00 ± 3,60	19,56 ± 11,71	10,22 ± 5,50
URM 6784	6,67 ± 3,60	13,33 ± 8,18	16,44 ± 6,11	29,33 ± 7,81	4,44 ± 2,08
URM 6781	0,89 ± 1,15	6,67 ± 3,60	17,33 ± 4,35	37,33 ± 16,64	11,56 ± 4,93
UMR 6802	1,78 ± 1,15	17,33 ± 6,55	16,44 ± 11,37	28,00 ± 6,24	10,22 ± 4,16
URM 6778	2,67 ± 1,73	15,56 ± 8,62	19,56 ± 8,38	23,56 ± 7,76	13,78 ± 7,02
URM 6806	2,22 ± 1,15	8,00 ± 2,64	16,89 ± 9,01	33,33 ± 12,28	17,33 ± 4,58
URM 6783	1,78 ± 0,57	21,78 ± 5,85	24,00 ± 5,19	31,11 ± 9,50	6,22 ± 5,50

Ao quinto dia de avaliação, a mortalidade acumulada confirmada de *N. corniger* causada pelos isolados de *F. sulawesiense* variou de 38,22–88,89%, destacando-se os isolados URM 7555 (82,67%) e URM 7560 (88,89%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Mortalidade acumulada confirmada (percentual médio ± desvio padrão D.P.) de *Nasutitermes corniger* cinco dias após a aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados do complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* *F. sulawesiense*.

Tratamentos	(%) ± D.P. de mortalidade acumulada confirmada
Controle	0,00 ± 0,00 d
URM 6808	38,22 ± 1,75 c
URM 7558	64,89 ± 3,24 b
URM 7555	82,67 ± 1,80 a
URM 7560	88,89 ± 1,22 a
CV (%)	31,85%

Os isolados de *F. pernambucanum* causaram entre 66,67–96% de mortalidade acumulada confirmada de *N. corniger*, sendo os maiores valores observados para URM 7554 (88,89%) e URM 7556 (96%) (Tabela 4).

Tabela 4 – Mortalidade acumulada confirmada (percentual médio ± desvio padrão D.P.) de *Nasutitermes corniger* cinco dias após aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados de *Fusarium pernambucanum*.

Tratamentos	(%) ± D.P. de mortalidade acumulada confirmada
Controle	0,00 ± 0,00 d
URM 7559	66,67 ± 4,0 c
URM 7557	71,11 ± 3,40 b
URM 6810	72,00 ± 0,92 b
URM 7561	73,78 ± 2,77 b
URM 7554	88,89 ± 1,51 a

URM 7556	96,00 ± 0,2 a
CV (%)	24,91

Quanto aos isolados de *F. caatingaense*, a mortalidade acumulada confirmada de *N. corniger* foi entre 48,44–84,89%. Cinco isolados se destacaram – URM 6781, URM 6802, URM 6778, URM 6806 e URM 6783, com mortalidade confirmada de 73,78%, 73,78%, 75,11%, 77,78% e 84,89%, respectivamente (Tabela 5). Os isolados de *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* que se destacaram com maiores valores de mortalidade acumulada confirmada, também mataram mais rapidamente os insetos como visto na Tabela 2.

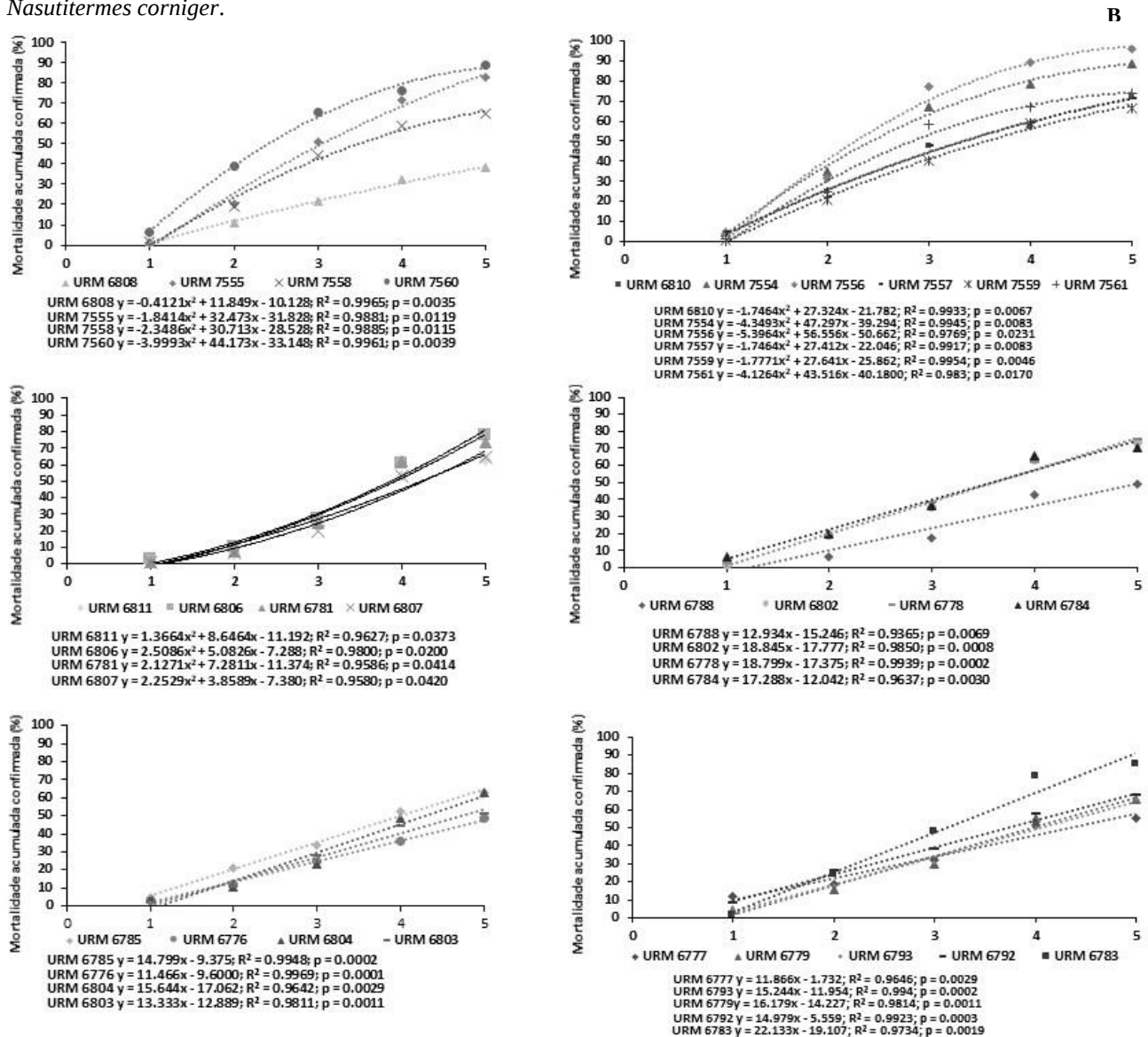
Tabela 5 – Mortalidade acumulada confirmada (percentual médio ± desvio padrão D.P.) de *Nasutitermes corniger* cinco dias após aplicação de suspensão de 1×10^7 conídios/mL de isolados de *Fusarium caatingaense*.

Tratamentos	(%) ± D.P. de mortalidade acumulada confirmada
Controle	0,00 ± 0,00 d
URM 6776	48,44 ± 1.40 c
URM 6788	48,89 ± 3.18 c
URM 6803	51,11 ± 1.72 c
URM 6777	55,11 ± 2.00 c
URM 6811	62,67 ± 2.51 b
URM 6804	62,67 ± 0.72 b
URM 6785	63,11 ± 2.70 b
URM 6807	64,44 ± 2.50 b
URM 6793	65,33 ± 3.46 b
URM 6779	65,78 ± 1.63 b
URM 6792	67,56 ± 0.70 b
URM 6784	70,22 ± 2.50 b
URM 6781	73,78 ± 1.97 a
URM 6802	73,78 ± 2.66 a
URM 6778	75,11 ± 0.70 a
URM 6806	77,78 ± 4.22 a
URM 6783	84,89 ± 0.31 a
CV (%)	27,74

Os modelos de regressão quadrática polinomial e linear se ajustaram aos resultados de mortalidade acumulada confirmada de *N. corniger* em função do tempo. A mortalidade dos insetos causada pelos isolados URM 6808 ($R^2 = 0,9965$; $F = 281,17$; $p = 0,0035$), URM 7555 ($R^2 = 0,9881$; $F = 82,88$; $p = 0,0119$), URM 7558 ($R^2 = 0,9885$; $F = 85,94$; $p = 0,0115$) e URM 7560 ($R^2 = 0,9961$; $F = 253,43$; $p = 0,0039$) de *F. sulawesiense* foi representada pelo modelo de regressão quadrática polinomial (Figura 7 A). O mesmo modelo ajustou-se aos isolados URM 6810 ($R^2 = 0,9933$; $F = 147,58$; $p = 0,0067$), URM 7554 ($R^2 = 0,9945$; $F = 119,90$; $p = 0,0083$), URM 7556 ($R^2 = 0,9769$; $F = 42,31$; $p = 0,0231$), URM 7557 ($R^2 = 0,9917$; $F = 119,90$; $p = 0,0083$), URM 7559 ($R^2 = 0,9954$; $F = 215,61$; $p = 0,0046$) e URM 7561 ($R^2 = 0,983$; $F = 57,75$; $p = 0,0170$) de *F. pernambucanum* (Figura 7 B) e para os isolados URM 6811 ($R^2 = 0,9627$; $F = 25,79$; $p = 0,0373$), URM 6806 ($R^2 = 0,9933$; $F = 48,88$; $p = 0,0067$), URM 6781 ($R^2 = 0,9586$; $F = 23,17$; $p = 0,0414$)

e URM 6807 ($R^2 = 0,9580$; $F = 22,80$; $p = 0,0420$) de *F. caatingaense* (Figura 7 C). O modelo de regressão linear ajustou-se aos demais isolados de *F. caatingaense* (Figuras 7 D – F). Na análise de regressão todos os tratamentos apresentaram resultados significativos ($p < 0,05$), sendo observado que todos os isolados causaram uma mortalidade crescente de *N. corniger* ao longo dos cinco dias de avaliação.

Figura 7 – Mortalidade acumulada confirmada durante cinco dias de avaliação, representada por meio da regressão quadrática polinomial para os isolados de *F. sulawesiense* (A); *Fusarium pernambucanum* (B) e *Fusarium catingaense* (C), e linear para os isolados de *Fusarium catingaense* (D, E e F) após aplicação de 1×10^7 conídios/mL contra *Nasutitermes corniger*.



Com base nesses resultados, os isolados URM 7560 de *F. sulawesiense*, URM 7556 de *F. pernambucanum* e URM 6783 de *F. caatingaense* foram selecionados como os mais promissores para uso no controle biológico de *N. corniger*.

4.2 EFEITO DO USO COMBINADO DE *Fusarium caatingaense* COM EXTRATOS DE *Ricinus communis* E *Nicotiana tabacum* NO CONTROLE DE *Dactylopius opuntiae* NO CAMPO

Para os isolados testados contra a cochonilha do carmim no campo, a produção de conídios por grama de arroz foi de $1,84 \times 10^8$ para URM 6778 e $1,91 \times 10^8$ para URM 6779. Tais isolados apresentaram viabilidade dos conídios de 92,16% e 95,17% e pureza de 100%, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6 – Produção de conídios por g de arroz, viabilidade e pureza dos isolados de *Fusarium catingaense* levados a campo.

Isolados	Produção de conídios/g de arroz ($n \times 10^8$) $\pm$ S.E.	Viabilidade dos conídios (%) $\pm$ S.E.	Pureza (%)
URM 6779	$1,91 \pm 0,10$	$95,17 \pm 0,76$	100
URM 6778	$1,84 \pm 0,04$	$92,16 \pm 1,48$	100

A triagem fitoquímica de extratos aquosos de *R. communis* a 5% e *N. tabacum* a 10% identificou a presença de alcalóides, flavonóides glicosídeos, saponinas e taninos, enquanto cumarinas e terpenos não foram observados (Tabela 7).

Tabela 7 – Análise fitoquímica do extrato aquoso de *Ricinus communis* e *Nicotiana tabacum*.

Extratos vegetais		
Fitoconstituintes	<i>Ricinus communis</i> 5%	<i>Nicotiana tabacum</i> 10%
Cumarinas	-	-
Flavonóides glicosídeos	+	+
Terpenos	-	-
Taninos	+	+
Alcalóides	+	+
Saponinas	+	+

2+ = presente; - = ausente.

A combinação de URM 6779 + extrato aquoso de *N. tabacum* a 10% foi considerada a mais eficaz para o controle de *D. opuntiae* no campo, com mortalidade corrigida de 90,82%, seguida da combinação de URM 6778 + extrato aquoso de *R. communis* a 5%, com 82,11% de insetos mortos (Tabela 8). O uso simultâneo dos agentes de controle testados em campo resultou em uma interação aditiva, com os dois tratamentos envolvendo a combinação de isolado fúngico + extrato vegetal apresentando uma ação de controle superior a observada ao uso destes agentes utilizados separadamente. O isolado URM 6779 (76,23%) e URM 6778 + Extrato aquoso de *R. communis* a 5% (82,11%) apresentaram eficácia estatisticamente semelhante. O mesmo foi observado entre URM 6778 (59,25%) e os extratos de *Nicotiana tabacum* a 10% (62,07%) e *R. communis* a 5%

(62,97 %). O detergente a 2%, que também foi utilizado como uma opção de pré-tratamento para os cladódios infestados com a cochonilha, apresentou mortalidade total corrigida de 0%.

Tabela 8 – Mortalidade total corrigida de *Dactylopius opuntiae* (média percentual $\pm$ erro padrão E.P.) causada pelos extratos aquosos de *Ricinus communis* a 5% e *Nicotiana tabacum* a 10% sozinhos e combinados com os isolados URM 6778 e URM 6779 de *Fusarium caatingaense* respectivamente.

Tratamentos	Mortalidade total (%) $\pm$ E.P.	Mortalidade esperada	X ² (qui-quadrado) (g.l. = 1)	Interação entre os agentes de controle
Detergente 2%	0,00 $\pm$ 0,00 e	–	–	–
URM 6778	59,25 $\pm$ 2,70 d	–	–	–
URM 6779	76,26 $\pm$ 3,50 bc	–	–	–
URM 6778 + Extrato aquoso de <i>R. communis</i> a 5%	82,11 $\pm$ 1,99 b	85,54	2,65	Aditiva
URM 6779 + Extrato aquoso de <i>Nicotiana tabacum</i> a 10%	90,82 $\pm$ 2,85 a	93,03	2,29	Aditiva
Extrato aquoso de <i>R. communis</i> a 5%	62,07 $\pm$ 1,92 d	–	–	–
Extrato aquoso de <i>Nicotiana tabacum</i> a 10%	70,63 $\pm$ 1,92 d	–	–	–

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Em relação à mortalidade confirmada, foi observada interação entre os tratamentos e os tempos de avaliação. A mortalidade confirmada variou de 7,22 – 61,67% entre os tratamentos envolvendo fungos, no primeiro tempo de avaliação (dezembro de 2020) (Tabela 9). Os tratamentos que se destacaram foram URM 6779 com 61,67% de mortalidade confirmada e URM 6778 + extrato aquoso de *R. communis* a 5% com 43,89% de confirmada. No segundo e terceiro tempo de avaliação (janeiro e fevereiro de 2021), não foi observada mortalidade confirmada.

Com base nos resultados da mortalidade total corrigida, o uso combinado do URM 6779 + *N. tabacum* a 10% (90,82%) e URM 6778 + *R. communis* a 5% (82,11%) foram considerados os mais eficazes para o controle de *D. opuntiae* no campo.

Tabela 9 – Mortalidade confirmada de *Dactylopius opuntiae* por *Fusarium caatingaense* em diferentes tempos de aplicação no campo.

Tratamentos	Mortalidade confirmada (média percentual $\pm$ E.P.) em diferentes tempos de aplicação		
	Dezembro 2020	Janeiro 2021	Fevereiro 2021
Detergente 2%	–	–	–
URM 6778	7,22 $\pm$ 4,34 cA	0,0 $\pm$ 0,0 aA	0,0 $\pm$ 0,0 aA
URM 6779	61,67 $\pm$ 5,09 aA	0,0 $\pm$ 0,0 aB	0,0 $\pm$ 0,0 aB
URM 6778 + extrato aquoso de <i>R. communis</i> a 5%	43,89 $\pm$ 8,62 bA	0,0 $\pm$ 0,0 aB	0,0 $\pm$ 0,0 aB

URM 6779 + Extrato aquoso de <i>Nicotiana tabacum</i> a 10%	10,55 ± 2,94 cA	0,0 ± 0,0 aB	0,0 ± 0,0 aB
Extrato aquoso de <i>R. communis</i> a 5%	–	–	–
Extrato aquoso de <i>Nicotiana tabacum</i> a 10%	–	–	–

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (minúsculas para colunas e maiúsculas para linhas) pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Erro padrão = E.P. (–) = mortalidade confirmada não aplicável.

5 DISCUSSÃO

O potencial de *Fusarium* no controle de Lepidoptera foi demonstrado em alguns estudos contra *Lymantria obfuscata* Walker (Lepidoptera: Lymantridae), *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) e *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) (MUNSHI et al., 2008; ANAND e TIWARY 2009; SHARMA et al., 2018). No entanto, em nosso estudo, nem um isolado de *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* foi patogênico a *S. frugiperda*. O mesmo ocorreu para isolados de *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium sambucinum* Fuckel e *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. testados contra *G. mellonella* (SUN e LIU 2008). Outras espécies de *Fusarium* testadas contra *G. mellonella*, como *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. *Fusarium redolens* Wollenw. (SUN e LIU 2008), *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., *F. equiseti* (AMEEN, 2012) e *Fusarium heterosporum* Nees e T. Nees (ALI-SHTAYEH et al., 2003) causaram mortalidade inferior a 27%.

Um levantamento das espécies entomopatogênicas de *Fusarium* indicou que as menores porcentagens de mortalidade foram registradas contra insetos das ordens Lepidoptera e Thysanoptera. Mais especificamente sobre isolados do FIESC, o estudo mostrou que a patogenicidade contra insetos da ordem Lepidoptera, na maioria dos casos, foi baixa ou mesmo inexistente (SANTOS et al., 2020). Os resultados obtidos neste estudo apoiam constatações de que existe uma afinidade a algumas ordens de insetos por membros dos complexos de espécies de *Fusarium* mais ricos em isolados entomopatogênicos.

Todos os isolados do FIESC produziram conídios viáveis, então não foi uma ausência de viabilidade dos esporos que comprometeu a patogenicidade. A ausência de patogenicidade dos isolados testados contra *S. frugiperda* pode estar associada a fatores intrínsecos e externos que possivelmente interferiram na virulência dos isolados, dificultando a adesão, germinação, diferenciação e estágios de penetração dos esporos no tegumento do inseto (MAINA et al., 2018). Tais fatores referem-se a propriedades cuticulares, como esclerotização, espessura e presença de substâncias antifúngicas e nutricionais (CHARNLEY, 2003), que podem estar presentes neste inseto dificultando o processo de infecção. É importante ressaltar que, os insetos também têm

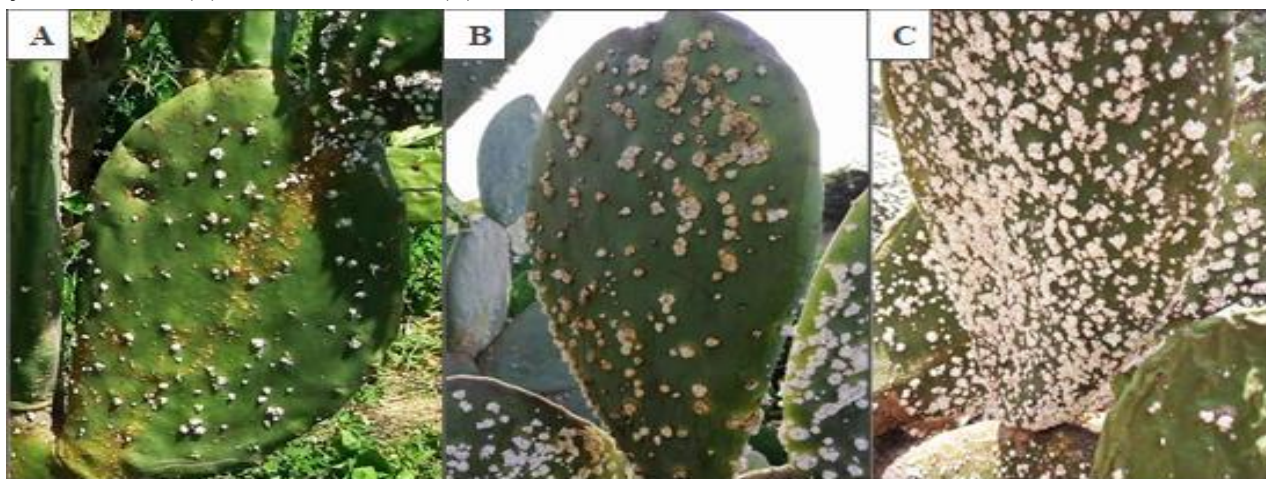
mecanismos de defesa que podem interferir no processo infectivo do fungo, mesmo após sua entrada no corpo (PAL et al., 2007; MORA et al., 2017).

Nos ensaios contra o cupim arborícola *N. corniger*, a maioria dos isolados do FIESC apresentaram elevados valores de mortalidade confirmada. Este é o primeiro estudo a relatar a patogenicidade de *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* para tal inseto. O potencial de fungos no controle de *N. corniger* também foi demonstrado por Lopes et al. (2017), que ao testarem *Cordyceps farinosa* [*Isaria farinosa* Fries (ESALQ1355)], relataram taxas de mortalidade de 95% para operários e 85% para soldados. Isolados de *M. anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Cordyceps javanica* (*Isaria javanica*) e *Penicillium* sp. testados contra *N. corniger* apresentaram altos valores de mortalidade, destacando-se *C. javanica* que no segundo dia de avaliação ocasionou a mortalidade de 100% dos insetos (OLIVEIRA et al., 2018). Outros autores relatam a patogenicidade de espécies de *Metarhizium* contra cupins do gênero *Nasutitermes* (ALBUQUERQUE et al., 2005; SALAS-AÇUÑA, 2005).

O uso de fungos no controle de cupins é considerado uma alternativa promissora, uma vez que estes patógenos em geral apresentam lentidão no processo de colonização, e ao entrarem em contato com os membros da colônia tornam-se uma fonte de disseminação do inóculo, provocando mudanças comportamentais e fisiológicas nos cupins. Além disso, o crescimento e desenvolvimento do fungo pode ser facilitado pela temperatura e umidade constantes nas galerias subterrâneas de cupins (NEVES e ALVES 2004; PIRES et al., 2010).

Nos ensaios em campo contra *D. opuntiae*, para avaliação da mortalidade corrigida, os tipos de controle mais promissores foram as combinações de *F. caatingaense* com extratos vegetais. Entretanto, a mortalidade confirmada de *D. opuntiae* foi observada apenas no primeiro tempo de avaliação (dezembro de 2020), destacando-se URM 6779 e 6778 + extrato aquoso de *R. communis* a 5%. A ausência de mortalidade confirmada ao longo do tempo pode ter sido influenciada por alguns fatores. No segundo e terceiro tempo de avaliação (janeiro e fevereiro de 2021), os cládídios da palma forrageira apresentaram maior infestação por *D. opuntiae* e, conseqüentemente, maior quantidade de cera em sua superfície (Figura 8). A cera funciona como uma barreira mecânica que protege o corpo das cochonilhas do calor, frio e predadores, tornando-se mais densa com o envelhecimento das colônias (TORRES e GIORGI, 2018).

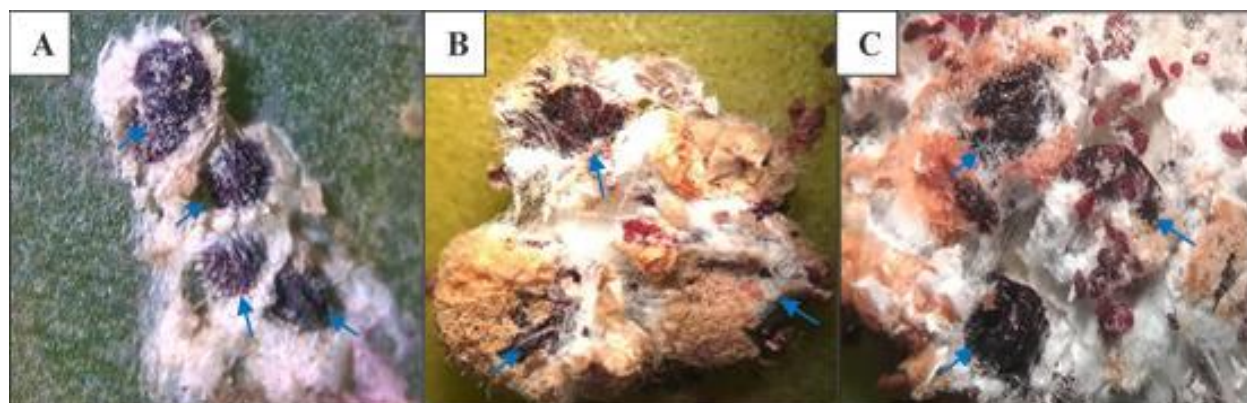
Figura 8 – Infestação de *Dactylopius opuntiae* em cladódios *Opuntia ficus-indica* em dezembro de 2020 (A), janeiro de 2021 (B) e fevereiro de 2021 (C).



Fonte: Diniz A.G. (2021).

Com o intuito de reduzir a superfície cerosa das cochonilhas e permitir o contato dos fungos e extratos a cutícula do inseto, aplicamos detergente neutro a 2% em todos os cladódios antes de pulverizarmos cada tipo de controle. No entanto, os insetos continuaram a produzir a cera e o fungo que inicialmente conseguiu entrar em contato com a cutícula, após causar a morte do inseto provavelmente teve dificuldades em externar, devido a excessiva quantidade de cera presente nas cochonilhas (Figura 9). A continuação na produção da cera se deve ao fato de que o entomopatógeno leva um tempo até matar o seu hospedeiro (normalmente > 7 dias) (HAJEK e FRANKENHUYZEN, 2017). Após romper a barreira cuticular, o patógeno atinge a hemolinfa, onde luta contra o sistema imunológico do inseto até se adaptar ao novo ambiente (MORA et al., 2017). Em resposta a infecção fúngica alguns insetos podem mudar o seu comportamento, como elevar a temperatura corporal a vários graus acima da temperatura ambiente, absorvendo direta ou indiretamente o calor do sol ou da planta em uma tentativa de superar o entomopatógeno. Tal comportamento pode reduzir a gravidade da infecção fúngica (KAYA e VEGA, 2012).

Figura 9 – Insetos de *Dactylopius opuntiae* mortos recobertos por cera: dezembro de 2020 (A), janeiro de 2021 (B) e fevereiro de 2021 (C), evidenciados manualmente com agulha sob estereomicroscópio.



Fonte: Diniz A.G. (2021)

Em um estudo semelhante pesquisadores utilizaram *F. caatingaense* para o controle de *D. opuntiae* no campo, e destacaram os isolados URM 6782, URM 6778 e URM 6811 como os mais promissores, com mortalidade confirmada de 42,7%, 40,7% e 14,0% respectivamente (CARNEIRO- LEÃO et al., 2017). Estudos de campo utilizando a combinação de fungos e extratos para controle de insetos-praga são escassos e praticamente inexistentes para o controle de *D. opuntiae*, dificultando a comparação dos nossos resultados com estudos semelhantes.

A eficácia de fungos entomopatogênicos em condições naturais de insetos-praga é relatada em diferentes estudos. Ao testar *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* [*M. acridum* (Driver & Milner) J.F. Bisch., S.A. Rehner & Humber)] no controle do gafanhoto *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae) Magalhães et al. (2000), relataram a mortalidade de 88% dos insetos após 14 dias da inoculação. Em um estudo de campo Sahayaraj e Namachivayam (2011), testaram diferentes espécies de fungos contra diferentes espécies de insetos. Os autores relataram redução na população de *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) de até 62% após aplicação de *Verticillium lecani* [*Akanthomyces lecanii* (Zimm.) Spatafora, Kepler & B. Shrestha], enquanto a população de *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) foi reduzida em até 72% após aplicação de *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin. Neste mesmo estudo, infestações de *S. litura* e *Aproarema modicella* Deventer (Lepidoptera: Gelechiidae) sofreram redução significativa após o tratamento com *B. bassiana*. Outros estudos em campo utilizando *B. bassiana* relatam sua eficácia contra diferentes insetos-praga (LIU et al., 2013; WAKIL e SCHMITT, 2015).

No nosso estudo, a ação dos extratos sobre *D. opuntiae* pode estar em partes, associada a presença de flavonóides glicosídeos, alcalóides, taninos e saponinas, compostos que na literatura foram relatados com atividades larvicidas e inseticidas (WAFA et al., 2014; RIBEIRO et al., 2016; FRANKE et al., 2019). Em relação ao efeito inseticida do extrato de folhas da mamona este pode ainda estar associado à ricinina, um alcalóide neurotóxico presente em todo vegetal, que pode paralisar e matar insetos (PINKERTON et al., 1999; FERRAZ, 1999). Para o extrato de *N. tabacum* é provável que sua ação contra *D. opuntiae* esteja associada a nicotina, substância que afeta o sistema nervoso de insetos, deixando-os suscetíveis à infecção por fungos entomopatogênicos (LOISELEUR, 2017; DINIZ et al., 2020).

O uso combinado de extratos e fungos neste estudo, superou a mortalidade observada para ambos agentes aplicados individualmente e efeitos aditivos foram observados. O isolado URM 6779 + extrato aquoso de *N. tabacum* a 10% testado em casa de vegetação contra *D. opuntiae*, também apresentou interação aditiva (DINIZ et al., 2020). Interações aditivas foram observadas por Velez et al. (2019), ao combinarem extratos de *Chenopodium ambrosioides* e *Enterolobium contortisiliquum* a isolados do FIESC. *Fusarium volatile* (URM 8051) e *Fusarium proliferatum* (URM 8044) combinados ao extrato aquoso de *R. communis* a 5%, também apresentaram interações

aditivas (BARBOSA et al., 2021). Em interações aditivas, os agentes de controle atuam de forma independente em uma infecção combinada (CORREA-CUADROS et al., 2016), levando a um aumento na mortalidade dos insetos, em comparação ao uso individual dos agentes, sem qualquer ação sinérgica.

Os resultados observados nos ensaios de campo são promissores, com altas taxas de mortalidade de *D. opuntiae*. Os tratamentos aplicados em diferentes tempos, apresentaram taxas de mortalidade confirmada no momento em que a infestação estava menor, indicando que o momento ótimo para aplicação dos agentes de controle é no início da infestação, uma vez que a cera produzida pelo inseto atua como uma barreira de proteção. Informações adicionais também são necessárias, pois as investigações sobre a patogenicidade dos isolados e a ação dos extratos em outras culturas e em insetos não-alvo são importantes. Bem como a identificação de metabólitos tóxicos de ambos os agentes de controle para humanos e animais. Além disso, são necessários estudos para o desenvolvimento de uma formulação com longevidade e eficácia desejadas.

De acordo com as observações feitas em nosso estudo, os isolados de *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* apresentaram diferentes níveis de eficácia conforme os alvos específicos. Observação semelhante foi feita por Sharma et al. (2018) ao utilizarem *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. contra diferentes espécies de insetos. Após diferentes espécies de *Fusarium* serem testadas contra *G. mellonella*, diferentes valores de mortalidade foram relatados (Ali-Shtayeh et al. 2003). A variação na mortalidade contra o mesmo inseto também foi relatada por Ameen (2012) ao testar diferentes espécies de *Fusarium*, destacando-se no estudo isolados de *Fusarium oxysporum* Schltdl. e *F. solani*, com taxas de mortalidade variando de 10–76% e 13–76%, respectivamente.

A eficácia de espécies do FIESC também foi demonstrada em outros estudos contra diferentes insetos. Addario e Turchetti (2011), observaram efeitos letais de 60% – 70% contra *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae). Resultados satisfatórios foram observados por Liu et al. (2014), que relataram mortalidade de 53,67% para ninfas e 83% para fêmeas adultas de *Matsucoccus matsumurae* Kuwana (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae). Isolados de *F. equiseti* e *F. incarnatum* mostraram ser eficazes contra a *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) causando a morte de 100% das ninfas após 144 h de aplicação (ANWAR et al., 2017). Isolados do FIESC testados contra *D. opuntiae* em laboratório apresentaram valores de mortalidade confirmado variando de 8% a 66,66%. Três isolados foram selecionados para ensaios de campo e o isolado URM 6782 se destacou com 42,66% de mortalidade confirmada (CARNEIRO-LEÃO et al., 2017).

A aplicabilidade do FIESC no controle de insetos também foi avaliada por Fan et al. (2014), que além de testarem a patogenicidade contra *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae), analisaram sua capacidade em causar doença em *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) e *Chlorophytum comosum*

(Thunb.). Baker (Asparagaceae). Os autores relataram 91,33% de mortalidade contra os insetos, e a ausência de fitopatogenicidade as plantas. Ao testarem a fitopatogenicidade de isolados do FIESC incluindo URM 6778 e URM 6779, os mesmos utilizados nesse estudo, contra feijão (*Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata* e *Phaseolus luningsatus*) e milho (*Zea mays*), Maciel et al. (2021), relataram a incapacidade dos isolados em causar doença nas plantas testadas.

A eficácia de *Fusarium* no controle de insetos pode estar associada à produção de enzimas extracelulares, como quitinase, protease e lipase, que influenciam diretamente na virulência do fungo, permitindo que estes infectem os insetos através do tegumento (ABDUL-WAHID e ELBANNA 2012; KHAN et al., 2012). Além das enzimas, a produção de toxinas por espécies de *Fusarium* podem ajudar o fungo no processo infeccioso, conferindo maior patogenicidade ao inseto. Beauvericina, por exemplo, é bem conhecida por sua ação contra insetos (WANG e XU 2012) e foi relatada em diferentes espécies de *Fusarium* (GUPTA et al. 1991; LOGRIECO et al. 1998; SHIMADA et al. 2010; LIUZZI et al. 2017), incluindo membros do Complexo de Espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (O'DONNELL et al. 2018), o que reforça seu potencial no controle de insetos.

Contudo, apesar do grande potencial de *Fusarium* no controle de insetos, algumas espécies podem produzir micotoxinas capazes de contaminar alimentos e rações, levando a efeitos tóxicos a humanos e animais, a depender do tipo e do nível de exposição (ANTONISSEN et al., 2014; O'DONNELL et al., 2018). Algumas espécies podem ainda, ser patogênicas a plantas (SUMMERELL e LESLIE, 2011). No entanto, o uso desses fungos no controle de insetos é considerado viável, uma vez que nem todas espécies são produtoras de micotoxinas, além de apresentarem especificidade ao hospedeiro e ausência de fitopatogenicidade a plantas atacadas pelos insetos (KURUVILLA e JACOB 1980; NAGALINGAM e JAYARAJ 1986; MIKUNTHAN e MANJUNATHA 2006; WENDA-PIESIK et al. 2009; LAZO 2012; SANTOS et al., 2020). Sendo necessário estudos mais aprofundados para investigação da aplicabilidade de *Fusarium* contra insetos-praga e uso em programas de controle biológico.

6 CONCLUSÕES

Com base no estudo realizado, concluímos que, as espécies de *Fusarium* testadas apresentam diferentes níveis de virulência e especificidade conforme o inseto hospedeiro avaliado. Os isolados de *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* e *F. caatingaense* são patogênicos ao cupim arborícola *N. corniger*. Entretanto, os mesmos isolados não apresentam patogenicidade contra a lagarta do cartucho do milho *S. frugiperda*.

Em campo, os isolados de *F. caatingaense* combinados aos extratos de *R. communis* e *N. tabacum* demonstraram ser eficientes no controle da cochonilha do carmim *D. opuntiae*.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam o potencial de *Fusarium* no controle de insetos-praga e reforçam o seu uso para tal. Entretanto, a aplicabilidade dos isolados de maior destaque está condicionada ao desenvolvimento de estudos aprofundados, que possam garantir a segurança e eficácia dos fungos em condições reais do desenvolvimento da praga.

REFERÊNCIAS

- ABREU, R.L.S. *et al.* Avaliação de danos por insetos em toras estocadas em indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. **Rev Árvore**, v. 26, n. 6, p. 789–796, nov. 2002.
- ADAMS, E.; ATKINSON, L. Queen fecundity and reproductive skew in the termite *Nasutitermes corniger*. **Insectes Soc** v. 55, p. 28-36, nov. 2008.
- ABDUL-WAHID, O. A.; ELBANNA, S. M. Evaluation of the insecticidal activity of *Fusarium solani* and *Trichoderma harzianum* against cockroaches; *Periplaneta Americana*. **Afr J Microbiol Res**, v. 6, n. 5, p. 1024-1032, fev. 2012.
- ADDARIO, E.; TURCHETTI, T. Parasitic fungi on *Dryocosmus kuriphilus* in *Castanea sativa* necrotic galls. **Bull Insectology**, v. 64, n. 2, p. 269-273, 2011.
- AFONSO-ROSA, A.P.S., BARCELOS, H.T. **Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho**. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, (Documentos, 344), p. 9-10. 2012.
- AHMAD, K.W.; FREED, S.; SHOUKAT, R. F. Efficacy of entomopathogenic fungi and botanicals on development of *Musca domestica*. **J Entomol Zool Stud** v. 5, n. 2, p. 593-599, fev. 2017.
- ALBUQUERQUE, A. C. *et al.* Urban termites of Recife, Northeast Brazil (Isoptera). **Sociobiology**, v. 59, n1, p. 183–188. 2012.
- ALBUQUERQUE, A. C. *et al.* Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. sobre *Nasutitermes coxipoensis*. **Neotrop Entomol**, v. 34, n. p. 585-591, ago. 2005.
- ALBUQUERQUE, A. C. *et al.* Determinação de doses infectivas de fungos entomopatogênicos para bioensaios com cupim de cana-de-açúcar *Nasutitermes* sp. (Isoptera: Termitidae). **Arq Inst Biol**, v. 70, n. 3, p. 137-139, set. 2003.
- ALBUQUERQUE, S. G.; SANTOS, D. C. Palma-forrageira. In Kill, L.H.P., Menezes, E.A. (eds.), **Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o semi-árido brasileiro**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p. 91–127. 2005.
- ALI S. *et al* Compatibility of entomopathogenic fungi and botanical extracts against the wheat aphid, *Sitobion avenae* (Fab.) (Hemiptera: Aphididae). **Egypt J Biol Pest Control**, v. 28, n. 97, p. 2-6, dez. 2018.
- AMEEN, M. K. M., Screening of *Fusarium* isolates pathogenicity in vitro by using the larvae of *Galleria mellonella* L. **J. Basrah Res. (Sciences)**, v. 38, n. 3A, p. 19-28. 2012.

ALI-SHTAYEH, M. S.; MARA'I, A.-B. B. M.; JAMOUS, R. M. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. **Mycopathologia** v. 156, n. 3, p. 235-244. 2003.

ALVES, M. A. *et al.* Fruto de palma [*Opuntia ficus-indica* (L) miller, Cactaceae]: morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 9, n. 1, p. 16-25. 2008.

ALVES, B. S.; LOPES, R. B. **Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina**. In: Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios. Piracicaba: FEALQ. v.14, p.69-104. 2008.

ALVES, S. B.; BERTI FILHO, E. **Controle dos cupins nas construções urbanas e rurais**. Piracicaba: ESALQ/CENA, (Boletim técnico n.4 da Universidade de São Paulo, Campus "Luiz de Queiroz"). 1995.

ANAND, R., TIWARY, B. N. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to eggs and larvae of *Spodoptera litura*, the common cutworm. **Biocontrol Sci Technol**, v. 19, n. 9, p. 919–929. 2009.

ANDERSON, J. M. Why should we care about soil fauna? **Pesqui Agropecu Bras**, Brasília, v. 4, n. 8, p. 835-842, ago. 2009.

ANDERSON, T. E.; ROBERTS, D. W. Compatibility of *Beauveria bassiana* isolates with insecticide formulations used in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) control. **J Econ Entomol**, v. 76, n. 6, p. 1437-1441. 1983.

ANTONISSEN, G. *et al.* The impact of *Fusarium* mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. **Toxins**, v. 6, n. 2, p. 430–452, fev. 2014.

ANWAR, W. *et al.* Genetic diversity of *Fusarium* Isolated from Members of *Sternorrhyncha* (Hemiptera): Entomopathogens against *Bemisia tabaci*. **Pak J Zool**, v. 49, n. 2, p. 639-645. 2017.

BADER, A. M. K.; ABU-ALLOUSH, A. H. First Record of the Cochineal Scale Insect, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), in Jordan. **Jordan J Biol Sci**, v. 12, n. 2, p. 155-159, jun. 2019.

BADII, M. H.; FLORES, A. E. Prickly pear cacti pest and their control in Mexico. **Fla Entomol**, v. 84, p. 503-505, dez. 2001.

BACON, C. W. *et al.* Production of fusaric acid by *Fusarium* species. **Appl Environ Microbiol**, v. 62, n. 11, p. 4039–4043, nov. 1996.

BANDEIRA, A. G., MIRANDA, C. S., VASCONCELLOS, A. **Danos causados por cupins em João Pessoa, Paraíba - Brasil**. In: Fontes, L.R., Berti Filho, E. eds. *Cupins. O desafio do conhecimento*. Piracicaba, FEALQ. pp.75-85. 1998.

BARBOSA, F. R.; SILVA, C. S. B.; CARVALHO, G. K. L. **Uso de inseticidas alternativos no controle de pragas agrícolas**. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, Documentos 191, p. 47. 2006.

BARBOSA, L.F.S. *et al.* Entomopathogenicity of fungi in combination with *Ricinus communis* extract for the control of *Aleurocanthus woglumi*. **Entomol Exp Appl**, p. 1–10, jun. 2021.

- BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposition, development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. **Neotrop Entomol**, v. 39, n. 6, p. 996-1001, dez. 2010.
- BASHEER, A. G. M. *Ricinus communis* (CASTOR) as Larvicide on *Anopheles arabiensis* Patton. **Int J Adv Pharm Biol Chem**, v. 3, n. 2, p. 319-328, abr-jun, 2014.
- BATEMAN, M. L. *et al.* Assessment of potential biopesticide options for managing fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Africa. **J Econ Entomol**, v. 142, p. 805–819, out. 2018.
- BATISTA-LOPES, E. *et al.* Seleção de Genótipos de Palma Forrageira (*Opuntia* spp.) e (*Nopalea* spp.) Resistentes à Cochonilha-do-Carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell, 1929) na Paraíba, Brasil. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 7, n. 1, p. 204–215. 2010.
- BEGUM, N.; SHARMA, B.; PANDEY, R. S. Evaluation of insecticidal efficacy of *Calotropis procera* and *Annona squamosa* ethanol extracts against *Musca domestica*. **J Biofertil Biopestic**, 1(1): 101-105. 2010.
- BEN-DOV, Y.; MILLER, D. R.; GIBSON, G. A. P. **ScaleNet: a Database of the Scale Insects of the World**. Scales in a Region Query Results. Retrieved from <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>. 2013.
- BENTIVENHA, J. P. F. *et al.* Baseline Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to SfMNPV and Evaluation of Cross-Resistance to Major Insecticides and Bt Proteins. **J. Econ. Entomol.** XX(X): 1-8. 2018.
- BERNARDI, O. *et al.* Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Prot.** 58: 33–40. 2014.
- BERTI-FILHO, E. (Coord.). **Cupins ou térmitas**. Viçosa, MG: UFV: SIF, 1993. v. 3. 56 p. il. (Manual de pragas em florestas, v. 3).
- BIGNELL, D. E., EGGLETON, P. **Termites in ecosystems. In Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology** (T. Abe, D.E. Bignell & M. Higashi, eds.). Kluwer Academic Publishers, London, p.363-387. 2000.
- BOLZAN, A. *et al.* Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole and cross-resistance to other diamide insecticides. **Pest Manag. Sci.** doi: 10.1002/ps.5376. 2019.
- BONTEMPO, L. F. *et al.* Extrato pirolenhoso, óleo de nim e fungos entomopatogênicos no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em condições de laboratório. **Revista cerrado Agrociências** 2: 30–39. 2011.
- BORGES, L. R. *et al.* Selection of cactus pear clones regarding resistance to carmine cochineal *Dactylopius opuntiae* (Dactylopiidae). **Acta Hort.** 995: 359– 365. 2013.
- BORGES, C. S. *et al.* Alelopatia do Extrato de Folhas Secas de Mamona (*Ricinus communis* L.). **R. Bras. Bioci.** 5(2):747-749. 2007.

- BOUHARROUD, R.; AMARRAQUE, A.; QESSAOUI, R. First report of the *Opuntia* cochineal scale *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) in Morocco. **EPPO Bulletin**, 46: 308–310. 2016.
- BOULOGNE, I. *et al.* Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. **J Pest Sci** 90(1): 19-37. 2017.
- BRECHT, A. **O manejo Ecológico de Pragas e Doenças. Santa Cruz do Sul: Fundação Agricultura e Meio Ambiente (FAMA);** República Dominicana; Rede de Ação em Praguicidas e suas Alternativas para a América Latina (RAP-AL). p. 33. 2004.
- BRITO, C. H. *et al.* Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no controle da cochonilha-do-carmim na Paraíba. **Rev. Biol. Ciênc. Terra**. 8: 1-5. 2008.
- BRUNS, H. A.; ABBAS, H. K. Planting date effects on Bt and non-Bt corn in the Mid-South USA. **Agron J** 98: 100-106. 2006.
- BUSTILLO, A. **Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia.** In: Seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, p.30-53, 2001.
- CAMARGO, F. V. Eficiência de Extrato Aquoso de *Ricinus communis* L. para controle de pragas do tomateiro. **Hortic. Bras.** (30)2: S5565-S5571. 2012.
- CAMPANHA, M.M. ET AL. **Sistema de produção integrada de milho para Região Central de Minas Gerais.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, (*Documentos: Embrapa Milho e Sorgo*). p.74. 2012.
- CARNEIRO, F. F. *et al.* **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, p. 624. 2015.
- CARNEIRO-LEÃO, M. P. *et al.* *Dactylopius opuntiae*: control by the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and confirmation of mortality by DNA fingerprinting. **J Pest Sci** 90: 925-933. 2017.
- CARRUTHERS, R. I.; SOPER, R. S.; **Fungal Diseases.** In: Fuxa, J.R.; Tanada, Y. 1987. (eds.). *Epizootiology of Insect Diseases*. New York: John Wiley and Sons, pp.357-416.
- CARVALHO, R. A. *et al.* Investigating the molecular mechanism of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PloS ONE** 8: e62268. 2013.
- CASMUZ, A. *et al.* Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Rev. Soc. Entomol. Arg.** 69: 209-231. 2010.
- CALSONI, F. C. **Etanol de biomassa de milho: utilização de aprendizagem de máquina no estudo de casos de caldeiras.** Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biocombustíveis, 89f. 2020.
- CHARNLEY, A. K. Fungal pathogens of insects: cuticle degrading enzymes and toxins. **Adv. Bot. Res.** 40: 241-321. 2003.

- CHAVEZ-MORENO, C. K. A.; TECANTE, A.; CASAS, E. A. The *Opuntia* (Cactaceae) and *Dactylopius* (Hemiptera: Dactylopiidae) in Mexico: a historical perspective of use, interaction and distribution. **Biodivers. Conserv.** 18: 3337-3355. 2009.
- CLAYDON, N.; GROVE, J. F. Insecticidal secondary metabolic products from the entomogenous fungus *Verticillium lecanii*. **J. Invertebr. Pathol.** 40: 413-418. 1982.
- CONSTANTINO, R. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. **J. Appl. Entomol.** 126(7/8): 355-365. 2002.
- CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Pap. Avulsos Zool.** 40(25): 387-448. 1999.
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.** 13(4): 500-506. 2011.
- CORREA-CUADROS, J. P.; SAENZ-APONTE, A.; RODRIGUEZ-BOCANEGRA, M. X. In vitro interaction of *Metarhizium anisopliae* Ma9236 and *Beauveria bassiana* Bb9205 with *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100 for the control of *Plutella xylostella*. **SpringerPlus**, 5, 2068. doi:10.1186/s40064-016-3745-5. Barbosa2016.
- COSTA, M. P. **Caracterização da comunidade bacteriana associada ao trato intestinal de *Spodoptera frugiperda* provenientes de diferentes dietas.** Tese (Doutorado em Ciências: Área de concentração, Genética e melhoramento do plantas); Praticaba, p.116. 2016.
- COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-Praga: morfologia, biologia e controle.** Rio Claro: DIVISA. p.128. 2002.
- CROUS, P. W. *et al.* *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Stud. Mycol.**, 98, 100116. 2021.
- CRUZ, I.; MENDES, S. M.; VIANA, P. A. **Importância econômica e manejo de insetos sugadores associados à parte aérea de plantas de milho Bt.** Circular técnica 175. Embrapa milho e Sorgo, Sete Lagoas Minas Gerais. 2012.
- CRUZ, C. S. A. *et al.* Uso de Partes Vegetativas em Forma de Pó Seco no Controle de Cupins Nasutitermes SP. (Insecta: Isoptera) Termitidae. **Revista Verde** 7(2): 102-105. 2012.
- CRUZ, I. 1995. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 45 p. (Embrapa-CNPMS. Circular técnica, 21).
- CRUZ, I. ET AL. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **Int. J. Pest Manag.**, 45: 293- 296. 1999.
- DE LOTTO, G. On two genera of mealybugs (Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae). **Afr Entomol.** 37: 109-115. 1974.
- DELGADO, P. A. M.; MURCIA, O. P. Hongos entomopatógenos: uma alternativa para la obtención de Biopesticidas. **Ambi-Agua** 6: 77-90. 2011.

- DEWAR, A. M., WOIWOD, I., JANVRY, E. C. Aerial migration of the rosegrain aphid *Metopolophium dirhodum* (Wlk), over Europe in 1979. **Plant Pathol.** 29: 101-109. 1980.
- DINIZ, A. G. *et al.* Bio-insecticide effect of isolates of *Fusarium caatingaense* (Sordariomycetes: Hypocreales) combined to botanical extracts against *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). **Biocontrol Sci. Technol.** 30: 384-395. 2020.
- DUARTE, F. G. *et al.* Cupins (Insecta: Isoptera) na arborização urbana da zona 1 de Maringá-PR. **Rev. em Agronegocio Meio Amb.** 1(1), 87-100. 2008.
- EISNER, T. *et al.* Defensive use of an acquired substance (carminic acid) by predaceous insect larvae. **Experientia** 50: 610–615. 1994.
- EL-KASSEM BOSLY, H.A. The Toxic Spectrum of *Ricinus Communis* and *Zingiber Officinalis* Essential Oils against *Musca Domestica* L. **Am J Agric Biol Sci** 12(4): 161-166. 2017.
- ESCALONA, M. H. *et al.* **Plaguicidas de origen botánico**. Habana: CIDISAV, p.105. 1998.
- EVANS, T. A.; FORSCHLER, B. T.; GRACE, J. K. Biology of invasive termites: a worldwide review. **Annu. Rev. Entomol.** 58: 455–74. 2013.
- FAN, J. H. *et al.* The strain HEB01 of *Fusarium sp.*, a new pathogen naturales that infects brown soft scale. **Ann. Microbiol.** 64: 333-341. 2014.
- FAO. 2003. **Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina**. Roma: Dirección de producción y sanidad animal de la FAO, p. 33-35.
- FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biol. Control.** 43: 237–256. 2007.
- FRANKE, H.; SCHOLL, R.; AIGNER, A. Ricin and *Ricinus communis* in pharmacology and toxicology-from ancient use and ‘Papyrus Ebers’ to modern perspectives and ‘poisonous plant of the year 2018’. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.** 392: 1181–1208. (2019)
- FERRAZ, A. C. Pharmacological evaluation of ricinine, a central nervous system stimulant isolated from *Ricinus communis*. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 63: 367–375. 1999.
- FERREIRA, R. S. Effects of two protease inhibitors from *Bauhinia bauhinoides* with different specificity towards gut enzymes of *Nasutitermes corniger* and its survival, **Chemosphere**. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.108. 2019.
- FIGUEIREDO, M. L. C.; MARTINS-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesqui. Agropecu. Bras.** 41: 1693-1698. 2006.
- FIGUEIREDO, M. L. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; CRUZ, I. Effect of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) density on control of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses upon release in maize field. **Rev. bras. milho sorgo** 1: 12–19. 2002.
- FILOTAS, M.; SANDERSON, J.; WRAIGHT, S. Compatibility and potential synergism between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the insect growth regulator azadirachtin for

control of the greenhouse pests *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*. 38th **Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology**, Alaska, USA, p. 81. 2005.

FLORES-HERNÁNDEZ, A. *et al.* Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: Dactylopiidae). **Rev Mex Biodivers** 77: 97-102. 2006.

FONTES, L. R.; MILANO, S. Termites as an urban problem in South América. **Sociobiology** 40(1): 103-151. 2002.

FONTES, L. R. **Sistemática geral de cupins**, p. 11-17. In: E. Berti Filho & L.R. Fontes (ed.), *Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins*. Piracicaba, FEALQ, p. 183. 1995.

FONTES, L. R. **Cupins e cidades: implicações ecológicas e controle**. Dedalus. Acervo. Piracicaba: ESALQ /USP. p. 65-95. 2002.

FOXCROFT, L. C.; HOFFMANN, J. H. **Dispersal of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), a biological control agent of *Opuntia stricta* (Haw.) Haw (Cactaceae)**, in the Kruger National Park, South Africa. *Koedoe*, 43, 1-5. 2000.

GALLOWAY, T., HANDY, R. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. **Ecotoxicology** 12: 345–363. 2003.

GARCÍA, C. G.; GONZÁLEZ, M. B. M.; BAUTISTA, M. N. Patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Rev. Colomb. Entomol.** 37(2): 217-222. 2011.

GARNIER-SILLAM, E.; HARRY, M. Distribution of humic compounds in mounds of some soil-feeding termite species of tropical rainforests: its influence on soil structure stability. **Insectes Soc.** 42(2): 167-185. 1995.

GAZAL, V., BAILEZ, O. *et al.* Decayed wood affectin the attraction of the pest arboretum termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) to resource foods. **Sociobiology** 59: 287–295. 2012.

GAZAL, V. *et al.* Behavioral responses of the arboreal térmita *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) to wood extracts. **Wood Sci. Technol.** doi:10.1007/s00226-014-0625-4. 2014.

GHOSH, S. *et al.* Acaricidal properties of *Ricinus communis* leaf extracts against organophosphate and pyrethroids resistant *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. **Vet. Parasitol.** 192: 259-267, 2013.

GOERGEN, G. *et al.* First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and central Africa. **PLoS ONE**, doi: 10.137/ journal.pone.0165632. 2016.

GRIJALBA, E. P. *et al.* *Metarhizium rileyi* biopesticide to control *Spodoptera frugiperda*: Stability and insecticidal activity under glasshouse conditions, **Fungal Biol.** doi: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.08.010>. 2018.

GUALTEROS, A. M. F.; TRIVIÑO, E. A. C. T.; SALAZAR, H. T. C. Efecto bioplaguicida de extractos vegetales para el control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz (*Zea mays*). **Acta Biolo Colomb.** 24(1): 58-66. 2019.

- GUPTA, S. *et al.* Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. *Mycopathologia* 115: 185–189. **Mycopathologia** 115: 185–189. 1991.
- GUTIERREZ, L. S.; CARDENAS, W. H. K.; GUTIERREZ, G. S. Estudio bioeconómico de la utilización de *Metarhizium anisopliae* junto con inhibidores de síntesis de quitina en el control del gusano cogollero en sorgo. **Manejo Integrado de Plagas** 36: 1-6. 1995.
- HAJEK, A. E.; VAN FRANKENHUYZEN, K. **Use of entomopathogens against forest pests.** In *Microbial Control of Insect and Mite Pests* (pp. 313-330). Academic Press. 2017.
- HAJEK, A. E.; DELALIBERA, I. Fungal pathogens as classical biological control agents against arthropods. **Bio Control** v. 55, n. 1. pp. 1347-58. 2010.
- HAN, J. H. *et al.* Virulence of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua*. **Mycobiology** 42(4): 385–390. 2014.
- HARTKE, T. R. **Breeding strategies and the reproductive ecology of *Nasutitermes corniger*.** Ph.D. thesis, Northeastern University. 2010.
- HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiol. Spectr.** 5(4):FUNK-0052-2016.doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016. 2017.
- HERNANDEZ-TREJO, A. *et al.* Effects of Native Entomopathogenic Fungal Strains and Neem Extract on *Spodoptera frugiperda* on Maize. **Southwest. Entomol.** 44(1) DOI: 10.3958/059.044.0113. 2019.
- HIROSE, E. *et al.* Effect of biofertilizers and Neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Braz Arch Biol Technol.** (44): 409-423. 2001.
- HORIKOSHI, R. J. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Sci. Rep.** 6: 1–8. 2016.
- HUANG, F. *et al.* Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize. **PLoSOne.** 9: e0112958. 2014.
- INWARD, D.; BECCALONI, G.; EGGLETON, P. Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. **Biol. Lett.** 3(3): 331–5. 2007.
- ISLAM, Md. T. *et al.* The integrated use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with botanical insecticide, neem against *Bemisia tabaci* on eggplant. **Afr. J. Microbiol. Res.** 5(21): 3409–3413. 2011.
- KABERA, J. *et al.* Insecticidal effects of essential oil of *Pelargonium graveolens* and *Cymbopogon citratus* on *Sitophilus zeamais* (Motsch.). **Afr. J. Food Sci.** 5(6): 366-375. 2011.
- KAYA, H. K.; VEGA, F. E. Scope and basic principles of insect pathology. **J. Insect Pathol.** 1-12. 2012.
- KANG, S. *et al.* Alkaloids and flavonoids from *Ricinus communis*. **J. Nat. Prod.** v. 48, n. 1, pp. 155-156. 1985.

- KHACHATOURIANS, G. G. **Physiology and genetics of entomopathogenic fungi**. In: ARORA, D.K.; AJELLO, L.; MUKERJI, K.G. (Eds.). *Handbook of Applied Mycology*. Humans, animals and insects. Marcel Dekker 2: 613-661. 1991.
- KHAN, S. *et al.* Entomopathogenic fungi as biocontrol agents. **Mol. Plant Breed.** 3(7): 63-79. 2012.
- KRISHNA, K.; WEESNER, F. M. **Introduction**. In: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds.), *Biology of termites*. New York: Academic Press 1: 1-17. 1969.
- KURUVILLA, S.; JACOB, A. Studies on *Fusarium oxysporum* Schlecht infecting rice brown plant hopper, *Nilaparvata lugens*. **Stal. Agric. Res. J. Kerala** 18: 51-54. 1980.
- 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)**. (Unpublished master's thesis). (Dissertação) Faculdade de Ciências Agronômicas of Universidade Estadual Paulista. 2012.
- LEGENDRE, F. *et al.* Phylogeny of Dictyoptera: Dating the Origin of Cockroaches, Praying Mantises and Termites with Molecular Data and Controlled Fossil Evidence. **PLoS ONE** 10(7): e0130127. 2015.
- LEO, M. *et al.* Profiling the chemical content of *Opuntia ficus indica* flowers by HPLC-P-DA-ESI-MS and GC-EIMS analyses. **Phytochem. Lett.** 3(1): 48-52. 2010.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell Professional, Ames, Iowa. p.388. 2006.
- LIMA, J. K. A. *et al.* Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Ind Crops Prod** 47: 246– 251. 2013.
- LIMA, R. K. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-docartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazon** 39(2): 377-382. 2009.
- LIMA, V. L. S. *et al.* Atividade inseticida do óleo de mamona sobre *Diaphania nitidalis* (Stoll) (Lepidoptera: Pyralidae). **Rev. Ciênc. Agron.** 10(3): 347-351. 2015.
- LIRA, M. A.; SANTOS, M. A. V.; DIAS, F. M. **Histórico e importância da palma**. In: Lira M.A. (Ed.), *Palma forrageira: cultivo e uso*. Recife: Cadernos do Semiárido – riquezas & oportunidades, CREA-PE. pp. 19–22. 2016.
- LIU, W. *et al.* Pathogenicity of three entomopathogenic fungi to *Matsucoccus matsumurae*. **PLoS ONE** 9: 1-9. 2014.
- LOISELEUR, O. Natural products in the discovery of agrochemicals. **CHIMIA International Journal of Chemistry** 71: 810–822. 2017.

- LOKESH, K.V. *et al.* Adulticidal activity of *Nicotiana tabacum* Linnaeus (Solanaceae) leaf extracts against the sweet potato weevil *Cylas formicarius* Fabricius 1798 (Coleoptera: Brentidae). **J Entomol Zool Stud** 5(5), 518-524. 2017.
- 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. *et al.* 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** 7(1):204-215. 2010.
- LOPES, E.B. *et al.* Velocidade de dispersão de *Dactylopius opuntiae* em palma gigante (*Opuntia ficus-indica*). **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, 6(2): 644-649. 2009.
- LOPES, S. L. *et al.* Efficacy of *Libidibia ferrea* var. *ferrea* and *Agave sisalana* extracts against *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Coccoidea). **J Agric Sci** 10(4). 2018.
- LOPES, R.S. *et al.* The potential of *Isaria* spp. as a bioinsecticide for the biological control of *Nasutitermes corniger*. **Biocontrol Sci. Technol.** 27(9): 1038-1048. 2017.
- LÓPEZ, M.A. *et al.* Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Northern Sinaloa. **Southwest. Entomol.** 43(4): 867-881. 2018.
- LÓPEZ, B.E.R. *et al.* Identificación, biología y adaptación de la cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae) a las condiciones ambientales de Bermejillo, Durango. **Revista Chapi Serie Zonas Áridas** 5: 41-48. 2006.
- LOGRIECO, A. *et al.* Beauvericin production by *Fusarium* species. **Appl. Environ. Microbiol.** 64: 3084–3088. 1998.
- LIUZZI, V. *et al.* Enniatin and beauvericin biosynthesis in *Fusarium* species: production profiles and structural determinant prediction. **Toxin**, 9: 45. 2017.
- MACIEL, M. H. C. *et al.* Evaluation of mycotoxin production and phytopathogenicity of the entomopathogenic fungi *Fusarium caatingaense* and *F. pernambucanum* from Brazil. **Curr. Microbiol.** 78: 1218–1226. 2021.
- MAGALHÃES, B. P.; GOETTEL, M. S.; FRAZÃO, H. D. S. Sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* and *Beauveria bassiana* on *Rhammatocerus schistocercoides* under humid and dry conditions. **Braz. J. Microbiol.** 31(3), 161-163. 2000.
- MAINA, U. M. A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. **J Entomol Zool Stud** 6(1): 27-32. 2018.
- MATHENGE, C. W. *et al.* The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae). **Bull. Entomol. Res.** 99: 551–559. 2009.
- MAZZEO, G. *et al.* *Dactylopius opuntiae*, a new prickly pear cactus pest in the Mediterranean: an overview. **Entomol. Exp. Appl.** 167(1): 59–72. 2019.
- McMAHAN, E. Bait-and-capture strategy of a termite-eating assassin bug. **Insectes Soc** 29:346-351. 1982.

- MENDES, L. A. *et al.* Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Ind Crops Prod** 108: 684-689. 2017.
- MENEZES-AGUIAR, E. de L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 58 p. (Documentos, 205). 2005.
- MIKUNTHAN, G.; MANJUNATHA, M. Pathogenicity of *Fusarium semitectum* against crop pests and its biosafety to non-target organisms. **Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.** 71: 465-473. 2006.
- MOHANTY, S. S. *et al.* Efficacy of female *Culex quinquefasciatus* with entomopathogenic fungus *Fusarium pallidoroseum*. **Parasitol. Res.** 103: 171-174. 2008.
- MONZÓN, A. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no-sintéticos. **Manejo Integrado de Plagas** 63: 95-103. 2001.
- MORA, M. A E.; CASTILHO, L. M. C.; FRAGA, M. E. Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. **Arq Inst Biol**, v. 84, n. p. 1-10, mar. 2017.
- MORAES, J. **Comunidades de coleoptera em cultivos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) em santa cruz do sul, RS**. Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Agrobiologia. 136f. 2014.
- MORAN, V. C.; HOFFMANN, J. H. The effects of simulated and natural rainfall on cochineal insects (Homoptera: Dactylopiidae): colony distribution and survival on cactus cladodes. **Ecol. Entomol.** v. 12, p. 61-68. 1987.
- MOREIRA, M. D. *et al.* **Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas**, p.89-120. In: Alvares, L.; Andrade, L. M (coord.). Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM: UFV. 2006.
- MOURA, J. Z. *et al.* Extrato de folhas de *Anadenanthera macrocarpa* sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial. **Comun. Sci.** 3(4): 249-254. 2012.
- MOUSSA, Z.; YAMMOUNI, D.; AZAR, D. *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896), a new invasive pest of the cactus plants *Opuntia ficus-indica* in the South of Lebanon (Hemiptera, Coccoidea, Dactylopiidae). **Bull. Soc. entomol. Fr.** 122(2): 173-178. 2017.
- MUÑOZ, C. X. C. *et al.* Inseticidas biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* Smith, su incidencia en el rendimiento. **Centro Agrícola** 44: 20-27. 2017.
- MUNSHI, N. A. *et al.* Efficacy of Entomopathogenic Fungus *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc. Against Gypsy Moth (*Lymantria obfuscata* Walker). **J. Entomol.** 5: 59-61. 2008.
- NAGALINGAM, B.; JAYARAJ, S. First record of *Fusarium semitectum* Berk. and Rav. as an entomophagous fungus. **Curr. Sci.** 55: 377-378. 1986.
- NANA B. *et al.* Preliminary study of selected entomopathogenic fungi for corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*, control. **Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests IOBC-WPRS Bulletin** 129: 38-42. 2017.

- NAPOLEÃO, B. A. **Plantio direto garante sustentabilidade para cultura do milho**. Informe Agropecuário, Uma publicação da EPAMIG 27(233). 2006.
- NAPOLEÃO, T. H. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. **Int. Biodeterior. Biodegradation** 65: 52-59. 2011.
- NASCIMENTO, R. B. *et al.* Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Manag Sci** 72:810-815. 2016.
- NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. External events related to the infection process of *Cornitermes cumu-lans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the entomo-pathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Neotrop. Entomol.** 33(1): 51-56. 2004.
- NEVES, R. T. *et al.* Efeito larvicida de *Ricinus communis* L. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental** 18: 127-131. 2014.
- O'DONNELL, K. *et al.* Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. **Mycologia** 104: 427-445. 2012.
- O'DONNELL, K. *et al.* Marasas *et al.* 1984 'Toxigenic *Fusarium* species: identity and mycotoxicology' revisited. **Mycologia**. 110:1058-1080. 2018.
- OBEMBE SAGHEER, O. M.; OGUNGBITE, O. C. Entomotoxic effect of tobacco seed extracted with different solvents against *Callosobruchus maculatus* infesting stored cowpea. **Int. J. Entomol. Res.** 1(1): 22-26. 2016.
- OCHOA, M. J.; BARBERA, G. **History and economic and agroecological importance**. Crop Ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear (ed. by P Inglese, C Mondragon, A Nefzaoui & C. S_aenz), pp. 1-11. FAO, Rome, Italy. 2017.
- OKUMA, D. M. Inheritance and fitness cost of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brazil. **Pest Manag Sci** 74:1441-1448. 2017.
- OLIVEIRA, G. F. dos S. *et al.* Ação patogênica de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* e *Penicillium* sp. contra *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Isoptera: Termitidae) no Amazonas. **Sci. Amazon.** 7(3): B7-B11. 2018.
- OLIVEIRA, C. N.; NEVES, P. M. O. J.; KAWAZOE, L. S. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Sci Agric** 60: 663-667. 2003.
- OTA, E. C. *et al.* Desempenho de cultivares de milho em relação à lagarta-do-cartucho. **Bragantia** 70(4): 850-859. 2011.
- PAIVA, P. M. G. *et al.* Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. **Int. Biodeterior. Biodegradation** 65: 982-989. 2011.
- PAL, S.; ST. LEGER, R. J.; WU, L. P. Fungal peptide destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. **J. Biol. Chem.** 282: 8969-8977. 2007.

- PALIWAL, R. L. *et al.* **El maíz en los trópicos, mejoramiento de producción.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia. 2001.
- PANYASIRI, C.; ATTATHOM, T.; POEHLING, H. M. Pathogenicity of entomopathogenic fungi-potential candidates to control insect pests on tomato under protected cultivation in Thailand. **J Plant Dis Prot** 114: 278-287. 2007.
- PAULA, A. R. *et al.* The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide Imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasit. Vectors** 48 1–8. 2011.
- PAVA-RIPOLL, M. *et al.* The rhizosphere-competent entomopathogen *Metarhizium anisopliae* expresses a specific subset of genes in plant root exudate. **Microbiology** 157: 47-55. 2011.
- PINKERTON, S. D.; ROLFE, R.; AULD, D. L. Selection of castor with divergent concentration of ricin and *Ricinus communis* agglutinin. **Crop Sci** 39: 353–357. 1999.
- PILLA, M. A. C.; AMOROZO, M. C. M.; FURLAN, A. Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP. **Acta Bot. Bras.** 20(4) 789-802. 2006.
- POGUE, M. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Mem. Am. Entomol. Soc.** 43: 1–202.
- POLANCZYK, R. A. **Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).** Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz. p.144. 2004.
- PORTILLO, L.; VIGUERAS, A. V. A review of the cochineal species in Mexico, host and natural enemies. **Acta Hortic** 728: 249–256. 2006.
- POTENZA, M. R. *et al.* Efeito de produtos naturais irradiados sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Arq. Inst. Biol.** 71(4): 477-484. 2004.
- QUINTELA, E. D. *et al.* **Principais pragas do caupi no Brasil.** Goiânia: EMBRAPACNPAP, pp.37. 1991.
- RAMANUJAM, B. *et al.* 2014. Management of Insect Pests by Microorganisms. **Proc. Indian Acad. Sci.** 80(2): 455-471.
- RAMANUJAM, B. *et al.* Field evaluation of entomofungal pathogens against cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch, and their effect on two coccinellid predators, **Int J Pest Manag** 63(1): 101-104. 2017.
- RAMÍREZ, Z. R. *et al.* Efectos genéticos de la resistencia a *Spodoptera frugiperda* en líneas de maíz derivadas de germoplasma nativo de Tamaulipas. **Rev. Mexicana cienc. agric** 8(6): 1329-1341. 2017.
- RAMÍREZ-SÁNCHEZ, C. J. *et al.* Efectividad de hongos entomopatógenos sobre la mortalidad de *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) en condiciones de laboratorio. **Rev. Mexicana cienc. agric.** publicación especial número 22. 2019.

- RAMOS, V. M. *et al.* Controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) via ingestão de samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Colloq Agrariae** 14(4): 30-38. 2018.
- RAMOS-LÓPEZ, M. A. *et al.* Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Afr. J. Biotechnol** 9(9): 1359-1365. 2010.
- RAVEEN, B. R. *et al.* Efficacy of Tobacco Leaf Extracts on the Larva of the Dengue Vector Mosquito. **Glob. j. sci.** 19(1): Version 1.0 Year. 2019.
- RIBEIRO, L. P. *et al.* Vertical and temporal distribution of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses, parasitized and non-parasitized, on maize plants. **Maydica** 59: 1-6. 2014.
- RIBEIRO, L. P. *et al.* Ação de inseticidas botânicos sobre o curuquerê-da-couve. **Revista Agropecuária Catarinense** 29(2): 84-89. 2016.
- RODRIGUES, R. F. O.; OLIVEIRA, F.; FONSECA, A. M. As folhas de Palma Christi - *Ricinus communis* L. Euphorbiaceae Jussieu: Revisão de conhecimentos. **Lecta** 20(2): 183-194. 2002.
- ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local** 1(2). 2001.
- ROMERO-ARENAS, O. *et al.* Mortality Evaluation of Armyworm (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) by using *Metarhizium anisopliae* In vitro. **J Pure Appl Microbiol** 8(2): 59-67. 2014.
- ROSSI, G. D. *et al.* Biochemical Analysis of a Castor Bean Leaf Extract and its Insecticidal Effects Against *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotrop. Entomol.** 41(6): 503-509. 2012.
- SÁ, R. A. *et al.* Antioxidant, *Fusarium* growth inhibition and *Nasutitermes corniger* repellent activities of secondary metabolites from *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **Int. Biodeterior. Biodegradation** 63: 470-477. 2009.
- SÁ, R. A. *et al.* Induction of mortality on *Nasutitermes corniger* by *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin. **Int. Biodeterior. Biodegrad.** 62: 460-464. 2008.
- SÁENZ-HERNANDEZ, C. Tecnologías de transformación de tunas y nopales. **CactusNet** 10: 73-80. 2005.
- SAHAYARAJ, K.; NAMACHIVAYAM, S. Field evaluation of three entomopathogenic fungi on groundnut pests. **Tropicultura**, 29(3), 143-147. 2011.
- SAGHEER, M. *et al.* Repellent and Toxicological Impact of Acetone Extracts of *Nicotiana tabacum*, *Pegnum hermala*, *Saussurea costus* and *Salsola baryosma* against Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). **Pak J Zool** 45(6): 1735-1739. 2013.
- SALAS-ACUÑA, B. Posibilidades de control de *Nasutitermes corniger* utilizando el hongo entomopatógeno *Metarhizium* sp. Kurú: **Revista Forestal** (Costa Rica) v. 2, n. 4, p. 16-21. 2005.

SAMPIERI, B. R. *et al.* Effect of ricinoleic acid esters from castor oil (*Ricinus communis*) on the oocyte yolk components of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol.** 191: 315-322. 2013.

SANTANA, A. L. *et al.* Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hardwoods against *Nasutitermes corniger*. **Int Biodeterior Biodegrad**, v. 64, 7–12. 2010.

SANTOS, D. C. *et al.* Manejo e Utilização da Palma Forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. IPA, Recife, Brazil. 2006a

SANTOS, D. C. *et al.* **Seleção de Clones de Palma Forrageira Resistentes a Cochonilha do Carmim *Dactylopius* sp. em Condições de Campo.** Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2006b

SANTOS, A. C. *et al.* Entomopathogenic *Fusarium* species: a review of their potential for the biological control of insects, implications and prospects. **Fungal Biol Rev**, v. 34, n. 1, p. 41–57. 2020.

SANTOS, A. A. *et al.* Acute Toxicity and Sub-lethal Effects of the Essential Oil of *Aristolochia trilobata* and Its Major Constituents on *Nasutitermes corniger* (Termitidae: Nasutitermitinae). **Neotrop. Entomol**, v. 48, n. 3, p. 515-521, jun. 2019.

SANTOS, A. C. S. *et al.* Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. **Mycologia**, v. 111, n. 2, p. 244–259, mar/abr. 2019.

SANTOS, A. C. S. *et al.* Controlling *Dactylopius opuntiae* with *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and extracts of *Ricinus communis* and *Poincianella pyramidalis*. **J Pest Sci**, v. 89, p. 539-547. 2016.

SANTOS, M.; FILHO, F. F. B.; MENDES, M. M. Avaliação da ação de extratos vegetais com potencial atividade carrapaticida Benedito. **PUBVET medicina veterinaria e zootécnica**, v. 12, n. 8, p. 1-7, ago. 2018.

SANTOS, P. de S. *et al.* Improving photoprotection of *Beauveria bassiana* conidia for biological control of the cactus pest *Dactylopius opuntiae* in the semiarid region northeast of Brazil. **Biocontrol Sci Technol**, v. 21, n. 8, p. 893–902. 2011.

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

SANTOS-AMAYA, O. F. *et al.* Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. **Sci Rep**, n. 5, p. 18243, dez. 2015.

SHIMADA, A. *et al.* Nematicidal activity of beauvericin produced by the fungus *Fusarium bulbicola*. **Z Naturforsch C J Biosci**, v. 65, n. 3-4, p. 207–210, mar. 2010.

- SILVA, C. D. *et al.* *Dactylopius opuntiae*: impactos causados e métodos alternativos utilizados em *Opuntia ficus-indica* NO MUNICÍPIO DE SANTO ANDRÉ-PB. **Revista Scire**, v. 02, n. 01, p. 1-13. 2013.
- SUMMERELL, B. A.; LESLIE, J. F. Fifty years of *Fusarium*: how could nine species have ever been enough? **Fungal Divers**, v. 50, p. 135–144. 2011.
- SARKER, S., LIM, U. T. Extract of *Nicotiana tabacum* as a potential control agent of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Plos One**, v. 13, n. 8, p. e0198302. 10.1371/journal.pone.0198302. 2018.
- SARMENTO, R. A *et al.* Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Jornal** v. 18, n. 2, p. 41-48. 2002.
- SCHEFFRAHN, R. H. *et al.* *Nasutitermes costalis* (Isoptera: Termitidae) in Florida: first record of a non-endemic establishment by a higher termite. **Fla entomol**, v. 85, n. 1, p. 273– 275. 2002.
- SCHEFFRAHN, R. H. *et al.* Taxonomy, distribution, and notes on the termites (Isoptera: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, and Termitidae) of Puerto Rico and the U.S. Virgin Islands. **Ann Entomol Soc Am**, v. 96, n. 3. p. 181-201, mai. 2003.
- SCHEFFRAHN, R. H. *et al.* Synonymy of the neotropical arboreal termites, *Nasutitermes corniger* and *N. costalis* (Isoptera: Termitidae), with evidence from morphology, genetics, and biogeography. **Ann Entomol Soc Am**, v. 98, p. 273-281, mai. 2005.
- SCHOLTE, E. J. *et al.* Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. **J Insect Sci**, v.4, p. 19-24. 2004.
- SEPASI, N., JAHANIA, M., MIRZAEI, M.R., MOHAMMADPOUR, K. *Fusarium cf nygamai* as a new entomopathogenic fungus infecting melon weevil (*Acytopeus curvirostris persicus*). **Buletin Tenkol**, v. 1, p. 110-113. 2015.
- SHAH, P. A.; PELL, J. K. Entomopathogenic fungi as biological control agents. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 64, n. 5-6, p. 413-423, jun. 2003.
- SHAHID, A. A. *et al.* Entomopathogenic Fungi as Biological Controllers: New Insight into their Virulence and Pathogenicity. **Arch Biol Sci**, v. 64, n. 1, p. 21-42. 2012.
- SHARANABASAPPA, S. *et al.* First report of fall army worm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) an alien invasive pest on maize in India. **Pest Management in Horticultural Ecosystems** v. 24, n. 1, p. 23-29, set. 2018.
- SHARMA, A.; CHANDLA, V. K.; THAKUR, D. R. Biodiversity and Pathogenicity Potential of Mycoflora Associated with *Brahmina coriacea* in Potato Fields of North-Western Hills. **J entomol** v. 9, p. 319-331. 2012.
- SHARMA, L. *et al.* Insect-associated fungi from naturally mycosed vine mealybug *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Biocontrol Sci Technol** 28: 122-141. 2018.
- SHARMA, L.; MARQUES, G. *Fusarium*, an Entomopathogen—A Myth or Reality?. **Pathogens**, v. 7, n. 4, p. 93, dez. 2018.

SHETLAR, D. J. Aphids on trees and shrubs, HYG-2031– 90. Ohio State University Extension Fact sheet. **Department of Horticulture and Crop Science**. Ohio State University, USA. 2001.

SHOUKAT, R. F.; FREED, S.; AHMAD, K. W. Evaluation of binary mixtures of entomogenous fungus and botanicals on biological parameters of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under laboratory and field conditions. **Int J Mosq Res**, v. 3, n. 5, p. 17-24, ago. 2016.

SILVA, A. B.; BESERRA, E. B.; DANTAS, J. P. Utilização de *Metarhizium anisopliae* e extratos vegetais para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Engenharia Ambiental**, v. 5, n. 1, p. 077-085. 2008.

SILVA, D. M. *et al.* Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. **Sci Agric**, v. 74, n. 1, p. 18–31, mar. 2017.

SILVA, G. N. Bioactivity of *Jatropha curcas* L. to insect pests of stored products. **J Stored Prod Res**, v. 48, n. 1, p. 111-113. 2012.

SILVA, J. F.; BLEICHER, E. Resistência de genótipos de feijão-de-corda ao pulgão-preto. **Pesqui. Agropecu**, v. 45, n. 10, p. 1089-1094, out. 2010.

SILVA, M. B. de; PAULA JUNIOR, T. J. de; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa:, EPAMIG, 232 p. 2010.

SILVA, M. D. C. *et al.* Purified *Cladonia verticillaris* lichen lectin: Insecticidal activity on *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). **Int Biodeterior Biodegrad**, v. 63, p. 334-340. 2009.

SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. S.; QUINDERÉ, M. A. W. **Pragas**. In: Freire Filho, F.R.; Lima, J.A. de A.; Ribeiro, V.Q. (Ed.) Feijão caupi: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Teresina: Embrapa Meio Norte. p.369- 402. 2005.

SILVA, R. Z. da; NEVES, P. M. O. J.; SANTORO, P. H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 305-312, jul/set. 2005.

SINGH, A.; KAUR, J. Toxicity of Leaf Extracts of *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceace) Against the Third Instar Larvae of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Am J Agric Biol Sci**, v. 4, n. 3-1, p. 5-10, fev. 2016.

SKURSKY, L.; BURLESON, D.; WALLER, G. Interconversion of ricinine and N-demethylricinine in senescent and green castor plant leaves. **J Biol Chem**, v. 244, n. 12, p. 3238-3242, jun. 1969.

SOARES, C. G *et al.* Efeito de óleos e extratos aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Nasutitermes corniger* Motschuls (Isoptera: Termitidae). **Rev Ciênc Agron**, v. 50, p. 107-116. 2008.

SOUZA, J. G. *et al.* Apuntessobre *Aphis craccivora* Koch. (Homoptera: Aphididae). **Centro Agrícola**, v. 34, n. 4, p. 87-88, out. 2007.

SOUZA, N. R.; HOFFMANN, J. H. Testing the hypothesis that a cochineal insect species (Hemiptera: Dactylopiidae) may have been displaced by a congeneric biological control agent from a different cactus host. **Biol Control**, v. 85, n.1, 25–29, jul. 2015.

- SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Fla Entomol**, v. 62, n. 2, p. 82-87, jun. 1979.
- SPODEK, M. et al. First record of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae) from Israel. **Phytoparasitica**, v. 42, n. 3, p. 377–379, jul. 2014.
- SRIVASTARA, N. et al. Prospective role of insecticides of fungal origin: Review. **Entomol Res**, v. 39, p. 341-355, nov. 2009.
- St. LEGER, R. J.; WANG, C. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve efficacy against insect pests. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 85, n. 1, p. 901-907, jan. 2010.
- St. LEGER, R. J. et al. Molecular-cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading-protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Eur J Biochem** v. 204, n. 3, p. 991–1001, mar. 1992.
- St LEGER, R. J. **Integument as a Barrier to Microbial Infections**, In: Binnington, K. and Retnakaran, A., Eds., Physiology of the Insect Epidermis, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Melbourne, p. 286-308. 1991.
- STOETZEL, M.; MILLER, G. Aerial feeding aphids of corn in the United States with reference to the root-feeding *Aphis maidiradicis* (Homoptera: Aphididae). **Fla Entomol**, v. 84, p. 83–98, mar. 2001.
- STORER, N. P. et al. Status of resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: lessons from Puerto Rico. **J Invertebr Pathol**, v.110, n. 3, p. 294–300, abr. 2012.
- SUN, B.-D.; LIU, X.-Z., Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. **Appl. Soil Ecol**, v. 39, n.1, p. 100-108, may. 2008.
- TANZINI, M. et al. Compatibilidad de agent estensoactivos com *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. **Manejo Integrado de Plagas**, v. 59, p. 15-18. 2001.
- TAVARES, W. S. et al. Selective effects of natural and synthetic insecticides on mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **J Environ Sci**, v. 45, p. 557–561, jul. 2010.
- TEETOR-BARSCH, G. H.; ROBERTS, D. W. Entomogenous *Fusarium* species. **Mycopathologia**, v. 84, p. 3-16. 1983.
- THORNE, B. L. Alate production and sex ratio in colonies of the Neotropical termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera; Termitidae). **Oecologia**, v. 58, p. 103-109, abr. 1983.
- THORNE, B. L. **Conehead Termite — Entomological Society of America Proposal Form for New Common Name or Change of ESA-approved Common Name**. Entomological Society of America, USA. 2013.
- TINZARRA, W. et al. The potential of using botanical insecticides for the control of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). **Afr J Biotechnol**, v. 5, n. 20, p. 1994-1998. 2006.

- TORRES, J. B.; GIORGI, J. A. Management of the false carmine cochineal *Dactylopius opuntiae* (Cockerell): perspective from Pernambuco state, Brazil. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 331–340, abr. 2018.
- TOSI, L. *et al.* Natural occurrence of *Fusarium proliferatum* on chestnut in Italy and its potential entomopathogenicity against the Asian chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. **J Pest Sci**, v. 88, p. 369-381, jun. 2015.
- TURNER, W. B.; ALDRIDGE, D. C. **Fungal Metabolites II**. Academic Press, New York, NY, USA. 1983.
- TRANIELLO, J. F. Enemy deterrence in the recruitment strategy of a termite: soldier organized foraging in *Nasutitermes costalis*. **Proc Natl Acad Sci**, v. 78, n. 3, p. 1976-1979. mar. 1981.
- TRANIELLO, J. F. A. Recruitment and orientation components in a termite trail pheromone. **Naturwissenschaften**, v. 69, p. 343-344. 1982.
- UPSANI, S. M. *et al.* Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids. **Pest Manag Sci**, v. 59, p. 1349-1998. 2003.
- VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S. **Controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o *Baculovirus spodoptera***. Circular técnica 114 (Embrapa/Cnpms) - Sete Lagoas, MG. 14.p 2009.
- VASCONCELOS, A. G. V. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmim (*Dactylopius ceylonicus*). **R Bras Zootec**, v. 38, n. 5, p. 827-831. 2009.
- VEGA, F. E. *et al.* **Fungal Entomopathogens**. Insect Pathology, Chapter v. 6, p. 171-220. 2012.
- VÉLEZ, A. M. *et al.* Inheritance of Cry1F resistance, cross-resistance and frequency of resistant alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bull Entomol Res**, v.103, n. 6, p. 700-713, dez. 2013.
- VELEZ, B. A. A. *et al.* Potential of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolates with *Chenopodium ambrosioides* and *Enterolobium contortisiliquum* extracts to control *Dactylopius opuntiae*. **Int J Trop Insect Sci**, v. 39, n. 2, p. 131-13. Mai. 2019.
- VERMA, M.; SHARMA, S.; PRASAD, R. Biological alternatives for termite control: a review. **Int Biodeterior Biodegradation**, v. 63, n. 8, p. 959-972. 2009.
- VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa no controle de insetos. **Quim Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400. 2003.
- VIGUERAS, A. L. *et al.* Use of botanical extracts to control wild cochineal (*Dactylopius opuntiae* Cockerell) on cactus pear. **Acta Hort**, v. 811, n. 811, p. 229-234. 2009.
- Wafa, G. *et al.* Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L. **Ind Crops Prod**, v. 56, p. 43–51, out. 2014.

WAKIL, W.; SCHMITT, T. Field trials on the efficacy of *Beauveria bassiana*, diatomaceous earth and Imidacloprid for the protection of wheat grains from four major stored grain insect pests. **J Stored Prod Res**, v. 64, part B, p. 160-167, out. 2015.

WANG, Q.; XU, L. Beauvericin, a bioactive compound produced by fungi: a short review. **Molecules** v. 17, n. 3, p. 2367–2377, fev. 2012.

WARUMBY, J. F. *et al.* **Pragas da palma. A Palma no Nordeste do Brasil: Conhecimento Atual e Novas Perspectivas de Uso** (ed. by MENEZES, R. S. C. S.; IMÕES, D. A.; SAMPAIO E. V. S. B.), pp. 65–80. UFPE-Editora Universitária, Recife, Brasil. 2005.

WENDA-PIESIK, A. *et al.* Mycoses of wheat stem sawfly (Hymenoptera: Cephidae) larvae by *Fusarium* spp. isolates. **Environ Entomol** v. 38, p. 387-394, abr. 2009.

ZACHARUK, R. Y. Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). III. Penetration of the host integument. **J Invertebr Pathol**, v. 15, p. n. 1, p. 372-396, jan. 1970.

ZANARDI, O. Z. *et al.* Bioactivity of a matrine-based biopesticide against four pest species of agricultural importance. **Crop Prot** v. 67, p. 160-167, Jan. 2015.

ZORZENON, F. J.; POTENZA, M. R. **Cupins: pragas em áreas urbanas**. São Paulo: Instituto Biológico, 46 p. (Boletim Técnico, 10). 1998.

ZURE, G. E. O. *et al.* Produtividade de milho verde híbrido bm3061 sob diferentes tipos de adubação no plantio. **Revista Verde de Agroecologia** v. 6, n. 2, p. 184-188. 2011.

APÊNDICE A

ARTIGO 1: PUBLICADO NO INTERNATIONAL JOURNAL OF PEST MANAGEMENT –ISSN 0967-0874 – QUALIS A4 – FATOR DE IMPACTO - 1.766 – DINIZ, A.G. *et al.*

PATHOGENICITY OF ISOLATES OF *Fusarium incarnatumequiseti* SPECIES COMPLEX TO *Nasutitermes corniger* (BLATTODEA: TERMITIDAE) AND *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) 68:(2), 103-11. DOI: 10.1080/09670874.2020.1797232

Pathogenicity of isolates of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex to *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Athaline Gonçalves Diniz^a, Leonardo Vilas-Bôas Mendonça Pedreira de Cerqueira^a , Thayza Karine de Oliveira Ribeiro^a, Antonio Félix da Costa^b  and Patricia Vieira Tiago^a 

^aDepartment of Mycology, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil; ^bInstituto Agronômico de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

ABSTRACT

In this study, we evaluated the pathogenicity of 27 isolates of *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (FIESC) against *N. corniger* and *S. frugiperda*: four *Fusarium sulawesiense* (= FIESC 16), six *Fusarium pernambucanum* (= FIESC 17) and seventeen *Fusarium coatingaense* (= FIESC 20). Suspensions of 1×10^7 conidia/mL⁻¹ were used for the pathogenicity tests. Cumulative mortality data on the fifth day were used for analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by the Scott-Knott test ($p \leq .05$). The variables (isolate and time) were submitted to regression analysis. The results revealed the absence of pathogenicity for isolates against *S. frugiperda*. On the other hand, all isolates tested were pathogenic to *N. corniger* with cumulative mortality confirmed at 38.22–96.00%. The isolates that caused the highest mortality values of *N. corniger* on the fifth day of evaluation also killed the insects faster. The highest confirmed cumulative mortality values were observed for URM 7560 from *F. sulawesiense* (88.89%), URM 7556 from *F. pernambucanum* (96.00%) and URM 6783 from *F. coatingaense* (84.89%). The effectiveness of these isolates will be compared in future field tests.

ARTICLE HISTORY

Received 10 December 2019
Accepted 12 July 2020

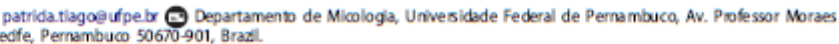
KEYWORDS

Pest insects; biological control; entomopathogenic fungi; *Fusarium sulawesiense*; *Fusarium pernambucanum*; *Fusarium coatingaense*

1. Introduction

Nasutitermes corniger Motschulsky (Blattodea: Termitidae) (Legendre et al. 2015) is a species of arboreal termite found from southern Mexico to northern Argentina and in the Caribbean Islands, Bahamas, Florida, New Guinea (Scheffrahn et al. 2002, 2005; Evans et al. 2013) and in the Antilles including Puerto Rico, and United States Virgin Islands (Scheffrahn et al. 2003). In Brazil, the genus *Nasutitermes* is found in Atlantic Forest, Cerrado and Caatinga environments (Zorzenon and Potenza 1998; Constantino 1999) and has been reported in the North, Northeast, Midwest and Southeast regions of the country (Constantino 2002; Costa-Leonardo 2002). *N. corniger* is considered one of the most important urban pests in the Brazil, attacking hard or soft, dry or wet woods, manufactured or not (Abreu et al. 2002). Its action causes structural damage to homes, historic structures, urban buildings, ornamental and fruit trees and causes deterioration of paintings, books, old documents and collections of objects (Constantino 2002; Verma et al. 2009; Albuquerque et al. 2014).

Spodoptera frugiperda Smith (Lepidoptera: Noctuidae) known in the larval phase as the fall armyworm is native to the Americas and is found from northern Argentina to southern Canada. (Sparks 1979; Bolzan et al. 2019). It is considered an invasive species in countries of West and Central Africa (Goergen et al. 2016) and India (Sharanabasappa et al. 2018). The armyworm is a polyphagous insect that feeds of different plant species mainly from the Poaceae family and is considered one of the main pests of maize (*Zea mays* L., Poaceae) in the tropical and subtropical regions of the Americas (Pogue 2002; Sarmiento et al. 2002; Silva et al. 2017; Bateman et al. 2018). In Brazil, due to the great diversity and availability of food, the fall armyworm occurs throughout the year and in all regions of the country (Pratissoli et al. 2004; Moura et al. 2012). This insect attacks the plant during its vegetative and reproductive phases (Afonso-Rosa and Barcelos 2012) and may lead to losses of up to 54.5% in grain yield, depending on the stage of maize development, production system, planting site and climate conditions (Figueiredo et al. 2006; Barros Torres and Bueno 2010; Ribeiro et al. 2014).

CONTACT Patricia Vieira Tiago  patrida.tiago@ufpe.br 

© 2020 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Both insects can be controlled by pesticides but these cause damage to human and animal health, affect the agroecosystem, select for populations of resistant organisms and limit the action of natural enemies such as entomopathogenic fungi which naturally maintain populations of insects in equilibrium (Carneiro et al. 2015). Different species of the genus *Fusarium* have been shown to be efficient in controlling pest insects (Baidoo and Ackuaku 2011; Ameen 2012; Jayasimha et al. 2012; Sharma et al. 2012; Anwar et al. 2017; Santos et al., 2019). The use of *Fusarium* for insect control may be a viable option since the fungus is easily cultivated in the laboratory, survives as a saprobe in soils, and although, the genus has important phytopathogens, studies have shown that some isolates besides having high virulence to insects, show host specificity and do not cause disease in plants (Kuruvilla and Jacob 1980; Teeter-Barsch and Roberts 1983; Nagalingam and Jayaraj 1986; Mikunthan and Manjunatha 2006; Wenda-Piesik et al. 2009; Lazo 2012; Fan et al. 2014).

The *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (FIESC) is considered one of the richest in insecticolous species (O'Donnell et al. 2012). The pathogenicity of different species of this complex has been evaluated against pest insects of orders such as Thysanoptera (Panyasiri et al. 2007), Lepidoptera (Munshi et al. 2008), Diptera (Mohanty et al. 2008), Hymenoptera (Wenda-Piesik et al. 2009), Coleoptera (Sharma et al. 2012) and Hemiptera (Santos et al. 2016), with promising results observed for insects of the order Hemiptera.

The efficacy of FIESC species has been confirmed for pest insects such as *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) (Addario and Turchetti 2011), *Matsucoccus matsumurae* Kuwana (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae) (Liu et al. 2014), *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae) (Fan et al. 2014), *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) (Anwar et al. 2017) and *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae) (Diniz et al., 2020). In this study, we determined the pathogenicity of isolates of *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex against *N. corniger* and *S. frugiperda*.

2. Material and methods

2.1. Fungal isolates

Twenty-seven isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex were used: four isolates from *Fusarium sulawesiense* Maryani, Sand.-Den., Lombard, Kema & Crous, six from *Fusarium pernambucanum* Santos, Lima, Tiago & Oliveira and seventeen of *Fusarium caatingaense* Santos, Lima,

Tiago & Oliveira. Most isolates of *F. sulawesiense* and *F. pernambucanum* were from adults of *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) collected from citrus leaves in the Zona da Mata region of Pernambuco State (L. F. S. B., unpublished data). All *F. caatingaense* isolates were from adults of *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae), collected from *Opuntia ficus-indica* samples cultivated in different municipalities of Pernambuco State, Brazil (Carneiro-Leão et al. 2017) (Table 1). The species *F. sulawesiense* was identified based on multi-gene phylogenetic inference, supported by morphological analyzes (Tiago et al. 2016; Maryani et al. 2019), and those of *F. caatingaense* and *F. pernambucanum* by morphological analyzes, molecular phylogenetic markers and the fertility of sexual crosses (Santos et al. 2016). The isolates are deposited in the URM (University Recife Mycology) Culture Collection (WFCC N°604) at the Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil (Table 1).

2.2. Collection of *Nasutitermes corniger*

N. corniger soldiers and workers were collected with tweezers used to fragment the foraging tunnels and gain access to the termites which were then removed with a soft bristle paintbrush and placed in sterile Petri dishes. The collections were from different trees of the Universidade Federal de Pernambuco Campus (UFPE) and the termites were taken to the Laboratory of Phytopathogenic Fungi and Biocontrollers, located at the UFPE Bioscience Center, where the bioassays were conducted.

2.3. Pathogenicity test: *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex against *Nasutitermes corniger*

The twenty-seven isolates were divided into three bioassays: the first with [10 isolates (*F. sulawesiense* and *F. pernambucanum*) + control], the second with (9 isolates of *F. caatingaense* + control) and the third with (8 isolates of *F. caatingaense* + control). The experimental design was completely randomized blocks in a split-plot scheme over time (1, 2, 3, 4 and 5 days of survival) with the isolates arranged in the plots and the evaluation days in the subplots, with three repetitions. In each repetition, five Petri dishes were used containing 15 insects each, totaling 75 insects.

Fungi were grown in Potato Dextrose Agar (PDA) medium and after eight days of growth 1×10^7 conidia/mL⁻¹ suspension were prepared with Tween 80 (0.01%). One milliliters of the suspensions of each isolate was applied to the insects

Table 1. Origin hosts and DNA sequence accession numbers of isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (FIESC) used in the study.

Species	Lineage name	Collection number	Host	Sequence accession number TEF1
<i>Fusarium sulawesiense</i>	(FIESC 16)	URM 6808	<i>Dactylopius opuntiae</i>	–
<i>Fusarium sulawesiense</i>	(FIESC 16)	URM 7558	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	–
<i>Fusarium sulawesiense</i>	(FIESC 16)	URM 7555	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	–
<i>Fusarium sulawesiense</i>	(FIESC 16)	URM 7560	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	–
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7559 ex-type	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398489
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7557	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398488
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 6810	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398485
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7561	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398490
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7554	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398486
<i>Fusarium pernambucanum</i>	(FIESC 17)	URM 7556	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	LS398487
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6776	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398463
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6788	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398491
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6803	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398476
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6777	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398464
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6811	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398482
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6804	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398477
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6785	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398471
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6807	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398480
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6793	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398474
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6779 ex-type	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398466
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6792	<i>Dactylopius opuntiae</i>	–
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6784	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398470
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6781	<i>Dactylopius opuntiae</i>	–
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6802	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398475
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6778	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398465
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6806	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398479
<i>Fusarium coatingaense</i>	(FIESC 20)	URM 6783	<i>Dactylopius opuntiae</i>	LS398469

with a hand sprayer. For the control only Tween 80 solution (0.01%) was applied. After application of the treatments, the insects were transferred with a paintbrush to Petri dishes containing filter paper moistened with sterile distilled water and a piece of wood paper. The insects were kept in a climate controlled environment at $24 \pm 3^\circ\text{C}$ in the dark. Mortality was evaluated daily for five days and dead insects were transferred to a Petri dish with moistened filter paper and kept in BOD Incubator (Bio-Oxygen Demand) ($26 \pm 1^\circ\text{C}$) to confirm the causal agent (Jessica et al. 2019). The identity of the fungi was confirmed from the preparation of slides and observation under an optical microscope. The viability of the conidia of FIESC isolates was evaluated by inoculating $50 \mu\text{L}$ of the 1×10^7 conidia/ mL^{-1} suspension in PDA medium (three replicates), followed by incubation in BOD. After 14 h, 200 conidia were counted per repetition, checking the amount of germinated and ungerminated conidia under an optical microscope (Alves et al. 1998).

2.4. Creation and maintenance of *Spodoptera frugiperda*

The caterpillars were kept in plastic containers with a hollow lid closed with tissue voile and fed on an artificial diet until the pupae phase (Greene et al. 1976). The caterpillars were then placed in 15 cm wide and 9 cm high plastic containers with a hollow lid closed with voile tissue until the emergence of the adults. After emergence, ten couples of *S.*

frugiperda were transferred to cages made of PVC tubes 15 cm diameter and 20 cm high, closed at one end with plastic film and the walls covered with craft paper. Adults were fed with a 10% cotton-soaked honey solution placed in a 2.5 cm wide and 2 cm high plastic container and renewed daily to avoid contamination and fermentation. The egg masses deposited on film paper and craft sheet were cut out and placed in plastic containers and supplied with artificial diet until the caterpillars hatched (Rodrigues et al. 2018).

2.5. Pathogenicity test: *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex against *Spodoptera frugiperda*

Pathogenicity tests against *S. frugiperda* were performed using the three bioassays containing the same isolates tested against *N. corniger*. Suspensions of 1×10^7 conidia/ mL^{-1} were obtained from each isolate with eight days of growth. Tween 80 (0.01%) was used as control. The treatments were sprayed in a volume of $800 \mu\text{L}$ on third instar caterpillars in Petri dishes. After spraying the caterpillars were individualized and transferred with tweezers to test tubes containing artificial diet. These were closed with hydrophobic cotton and kept in a climate-controlled environment at ($26 \pm 1^\circ\text{C}$). The experimental design was completely randomized in a split-plot scheme over time, with 8 days of evaluation. The isolates were arranged in the plots and the days of evaluation in the subplots, with five replications per

Table 2. Confirmed daily mortality (mean percentage $\pm$ standard deviation SD) of *Nasutitermes corniger* over five days of evaluation after a suspension application of 1×10^7 conidia/mL⁻¹ of *Fusarium sulawesiense*, *Fusarium pernambucanum* and *Fusarium caatingaense* isolates.

<i>Fusarium sulawesiense</i>					
	1 ^o Day	2 ^o Day	3 ^o Day	4 ^o Day	5 ^o Day
Control	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
URM 6808	1.78 $\pm$ 2.30	9.33 $\pm$ 3.00	10.22 $\pm$ 6.65	10.67 $\pm$ 2.00	6.22 $\pm$ 4.72
URM 7558	1.78 $\pm$ 1.15	17.33 $\pm$ 11.35	24.89 $\pm$ 14.18	15.11 $\pm$ 2.30	5.78 $\pm$ 3.05
URM 7555	1.33 $\pm$ 1.00	18.67 $\pm$ 10.58	31.11 $\pm$ 17.09	20.44 $\pm$ 6.35	11.11 $\pm$ 10.21
URM 7560	6.67 $\pm$ 7.00	32.44 $\pm$ 14.57	26.67 $\pm$ 15.52	10.67 $\pm$ 6.24	12.44 $\pm$ 13.57
<i>Fusarium pernambucanum</i>					
	1 ^o Day	2 ^o Day	3 ^o Day	4 ^o Day	5 ^o Day
Control	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
URM 7559	0.89 $\pm$ 0.57	20.00 $\pm$ 13.85	19.11 $\pm$ 8.08	19.11 $\pm$ 6.65	7.56 $\pm$ 3.78
URM 7557	4.89 $\pm$ 1.15	17.33 $\pm$ 18.35	25.33 $\pm$ 13.52	11.56 $\pm$ 3.21	12.00 $\pm$ 12.16
URM 6810	4.00 $\pm$ 3.00	20.44 $\pm$ 3.51	23.11 $\pm$ 3.05	9.33 $\pm$ 1.73	15.11 $\pm$ 4.04
URM 7561	1.33 $\pm$ 1.73	23.11 $\pm$ 12.70	33.78 $\pm$ 14.57	8.89 $\pm$ 1.52	6.67 $\pm$ 5.56
URM 7554	4.44 $\pm$ 4.04	30.67 $\pm$ 7.54	32.00 $\pm$ 14.10	11.11 $\pm$ 11.10	10.67 $\pm$ 10.39
URM 7556	4.00 $\pm$ 1.00	27.56 $\pm$ 11.50	45.78 $\pm$ 9.51	12.00 $\pm$ 7.81	6.67 $\pm$ 6.24
<i>Fusarium caatingaense</i>					
	1 ^o Day	2 ^o Day	3 ^o Day	4 ^o Day	5 ^o Day
Control	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
URM 6776	3.11 $\pm$ 0.57	8.89 $\pm$ 3.51	12.44 $\pm$ 11.01	11.56 $\pm$ 3.05	12.44 $\pm$ 8.08
URM 6788	2.22 $\pm$ 2.08	4.44 $\pm$ 0.57	10.67 $\pm$ 5.29	25.33 $\pm$ 14.93	6.22 $\pm$ 5.50
URM 6803	1.33 $\pm$ 1.00	9.33 $\pm$ 10.44	17.33 $\pm$ 10.58	16.44 $\pm$ 6.65	6.67 $\pm$ 4.00
URM 6777	12.00 $\pm$ 8.66	6.67 $\pm$ 4.58	13.78 $\pm$ 5.85	18.67 $\pm$ 8.71	4.00 $\pm$ 3.00
URM 6811	1.78 $\pm$ 0.57	4.44 $\pm$ 2.08	19.11 $\pm$ 11.15	27.56 $\pm$ 6.80	9.78 $\pm$ 6.11
URM 6804	3.56 $\pm$ 2.51	7.11 $\pm$ 3.78	12.89 $\pm$ 5.13	25.33 $\pm$ 3.00	13.78 $\pm$ 3.05
URM 6785	4.89 $\pm$ 4.04	16.00 $\pm$ 4.58	12.89 $\pm$ 6.65	18.67 $\pm$ 4.00	10.67 $\pm$ 4.58
URM 6807	0.89 $\pm$ 1.15	5.78 $\pm$ 1.52	12.89 $\pm$ 6.02	33.78 $\pm$ 12.09	11.11 $\pm$ 5.50
URM 6793	4.89 $\pm$ 4.04	13.33 $\pm$ 6.92	12.44 $\pm$ 7.50	19.11 $\pm$ 6.11	15.56 $\pm$ 3.05
URM 6779	4.44 $\pm$ 4.51	11.56 $\pm$ 1.52	14.22 $\pm$ 4.72	24.89 $\pm$ 5.50	10.67 $\pm$ 0.00
URM 6792	8.44 $\pm$ 4.50	17.33 $\pm$ 3.60	12.00 $\pm$ 3.60	19.56 $\pm$ 11.71	10.22 $\pm$ 5.50
URM 6784	6.67 $\pm$ 3.60	13.33 $\pm$ 8.18	16.44 $\pm$ 6.11	29.33 $\pm$ 7.81	4.44 $\pm$ 2.08
URM 6781	0.89 $\pm$ 1.15	6.67 $\pm$ 3.60	17.33 $\pm$ 4.35	37.33 $\pm$ 16.64	11.56 $\pm$ 4.93
URM 6802	1.78 $\pm$ 1.15	17.33 $\pm$ 6.55	16.44 $\pm$ 11.37	28.00 $\pm$ 6.24	10.22 $\pm$ 4.16
URM 6778	2.67 $\pm$ 1.73	15.56 $\pm$ 8.62	19.56 $\pm$ 8.38	23.56 $\pm$ 7.76	13.78 $\pm$ 7.02
URM 6806	2.22 $\pm$ 1.15	8.00 $\pm$ 2.64	16.89 $\pm$ 9.01	33.33 $\pm$ 12.28	17.33 $\pm$ 4.58
URM 6783	1.78 $\pm$ 0.57	21.78 $\pm$ 5.85	24.00 $\pm$ 5.19	31.11 $\pm$ 9.50	6.22 $\pm$ 5.50

treatment, considering each caterpillar as one repetition. The viability of the conidia of isolates in *S. frugiperda* bioassays was also evaluated as described in item 2.3.

2.6. Statistical analysis

The confirmed cumulative mortality data for *N. corniger* obtained on the fifth day after fungal application were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means compared by the Scott-Knott test at 5% probability, using the Sisvar 5.6 software (Ferreira 2011). Confirmed cumulative mortality values of *N. corniger* caused by each isolate of *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. caatingaense* over the evaluation time were subjected to regression analysis applying linear or quadratic models ($p < .05$) using Statistix 10.0 software (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

3. Results

The conidia of *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. caatingaense* isolates used for pathogenicity tests against *N. corniger* and *S. frugiperda* were viable with germination rates above 90%.

The isolates of *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. caatingaense* were not pathogenic to *S. frugiperda*. The insects developed normally, similar to the control treatment, without mortality after the eighth day of evaluation.

In the pathogenic evaluation of FIESC isolates tested against *N. corniger* there were different peaks of confirmed daily mortality over the five days of evaluation, varying according to the isolate and species tested. URM 7560 and URM 7555 of *F. sulawesiense* had confirmed daily mortality peaks of 32.44% and 31.11% on the second and third day, respectively (Table 2). *F. pernambucanum* isolates showed mortality peaks between the second and third day, highlighting the isolate URM 7556 which on the third day caused a confirmed mortality of 45.78% of termites. *F. caatingaense* isolates showed confirmed mortality peaks mainly on the fourth day, with the highest peak observed for URM 6781 (37.33%). The insects used in the control treatment did not show fungal development (0.00% confirmed mortality; Table 2).

On the fifth day of evaluation, the accumulated confirmed mortality of *N. corniger* caused by *F. sulawesiense* isolates ranged from 38.22% to 88.89%, highlighting the URM 7555 (82.67%) and URM

Table 3. Confirmed cumulative mortality (mean percentage $\pm$ standard deviation SD) of *Nasutitermes corniger* five days after application of 1×10^7 conidia/mL⁻¹ suspension of *Fusarium sulawesiense*.

Treatments	(%) $\pm$ SD confirmed cumulative mortality
Control	0.00 $\pm$ 0.00 d
URM 6808	38.22 $\pm$ 1.75 c
URM 7558	64.89 $\pm$ 3.24 b
URM 7555	82.67 $\pm$ 1.80 a
URM 7560	88.89 $\pm$ 1.22 a
CV (%)	31.85%

Means followed by the same letter do not differ from each other by the Scott-Knott test ($p \leq .05$).

CV: coefficient of variation.

7560 (88.89%; Table 3). *F. perambucanum* isolates caused confirmed cumulative mortality of 66.67–96%, with the highest values observed for URM 7554 (88.89%) and URM 7556 (96%) (Table 4). Regarding the isolates of *F. caatingaense*, the confirmed cumulative mortality ranged from 48.44% to 84.89%. Five isolates stood out—URM 6781, URM 6802, URM 6778, URM 6806 and URM 6783, with confirmed cumulative mortality of 73.78%, 73.78%, 75.11%, 77.78% and 84.89%, respectively (Table 5). Such isolates of *F. sulawesiense*, *F. perambucanum* and *F. caatingaense* that stood out with higher values of confirmed accumulative mortality also killed the insects more quickly (Table 2).

The quadratic and linear regression models fitted the results of confirmed cumulative mortality of *N. corniger* as a function of time. Insect mortality caused by *F. sulawesiense* isolates URM 6808 ($R^2 = 0.9965$; $F = 281.17$; $p = .0035$), URM 7555 ($R^2 = 0.9881$; $F = 82.88$; $p = .0119$), URM 7558 ($R^2 = 0.9885$; $F = 85.94$; $p = .0115$) and URM 7560 ($R^2 = 0.9961$; $F = 253.43$; $p = .0039$) were represented by the quadratic regression model (Figure 1(A)). The same model adjusted to URM 6810 ($R^2 = 0.9933$; $F = 147.58$; $p = .0067$), URM 7554 ($R^2 = 0.9945$; $F = 119.90$; $p = .0083$), URM 7556 ($R^2 = 0.9769$; $F = 42.31$; $p = .0231$), URM 7557 ($R^2 = 0.9917$; $F = 119.90$; $p = .0083$), URM 7559 ($R^2 = 0.9954$; $F = 215.61$; $p = .0046$) and URM 7561 ($R^2 = 0.983$; $F = 57.75$; $p = .0170$) of *F. perambucanum* (Figure 1(B)) and for URM 6811 ($R^2 = 0.9627$; $F = 25.79$; $p = .0373$), URM 6806 ($R^2 = 0.9933$; $F = 48.88$; $p = .0067$), URM 6781 ($R^2 = 0.9586$; $F = 23.17$; $p = .0414$) and URM 6807 ($R^2 = 0.9580$; $F = 22.80$; $p = .0420$) of *F. caatingaense* (Figure 1(C)). The linear regression model also fit the other *F. caatingaense* isolates (Figure 1(D–F)). In the regression analysis all treatments showed significant results ($p < .05$), and it was observed that all isolates caused an increasing mortality of *N. corniger* over the five days of evaluation.

Based on these results the isolates URM 7560 from *F. sulawesiense*, URM 7556 from *F.*

Table 4. Confirmed cumulative mortality (mean percentage $\pm$ standard deviation SD) of *Nasutitermes corniger* five days after application of 1×10^7 conidia/mL⁻¹ suspension of *Fusarium perambucanum*.

Treatments	(%) $\pm$ SD confirmed cumulative mortality
Control	0.00 $\pm$ 0.00 d
URM 7559	66.67 $\pm$ 4.0 c
URM 7557	71.11 $\pm$ 3.40 b
URM 6810	72.00 $\pm$ 0.92 b
URM 7561	73.78 $\pm$ 2.77 b
URM 7554	88.89 $\pm$ 1.51 a
URM 7556	96.00 $\pm$ 0.2 a
CV (%)	24.91

Means followed by the same letter do not differ from each other by the Scott-Knott test ($p \leq .05$).

CV: coefficient of variation.

Table 5. Confirmed cumulative mortality (mean percentage $\pm$ standard deviation SD) of *Nasutitermes corniger* five days after application of 1×10^7 conidia/mL⁻¹ suspension of *Fusarium caatingaense*.

Treatments	(%) $\pm$ SD of confirmed cumulative mortality
Control	0.00 $\pm$ 0.00 d
URM 6776	48.44 $\pm$ 1.40 c
URM 6788	48.89 $\pm$ 3.18 c
URM 6803	51.11 $\pm$ 1.72 c
URM 6777	55.11 $\pm$ 2.00 c
URM 6811	62.67 $\pm$ 2.51 b
URM 6804	62.67 $\pm$ 0.72 b
URM 6785	63.11 $\pm$ 2.70 b
URM 6807	64.44 $\pm$ 2.50 b
URM 6793	65.33 $\pm$ 3.46 b
URM 6779	65.78 $\pm$ 1.63 b
URM 6792	67.56 $\pm$ 0.70 b
URM 6784	70.22 $\pm$ 2.50 b
URM 6781	73.78 $\pm$ 1.97 a
URM 6802	73.78 $\pm$ 2.66 a
URM 6778	75.11 $\pm$ 0.70 a
URM 6806	77.78 $\pm$ 4.22 a
URM 6783	84.89 $\pm$ 0.31 a
CV (%)	27.74

Means followed by the same letter do not differ from each other by the Scott-Knott test ($p \leq .05$).

CV: coefficient of variation.

perambucanum and URM 6783 from *F. caatingaense* were selected as potential for *N. corniger* biological control.

4. Discussion

The potential of *Fusarium* in the control of Lepidoptera has been shown in some studies against *Lymantria obfuscata* Walker (Lepidoptera: Lymantridae), *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) and *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) (Munshi et al. 2008; Anand and Tiwary 2009; Sharma et al. 2018). However, in our study the absence of pathogenicity of *F. sulawesiense*, *F. perambucanum* and *F. caatingaense* was observed for *S. frugiperda*. The same occurred for isolates of *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium sambucinum* Fuckel and *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. against *G. mellonella* (Sun and Liu 2008). Other *Fusarium* species tested against *G. mellonella*, such as *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc.,

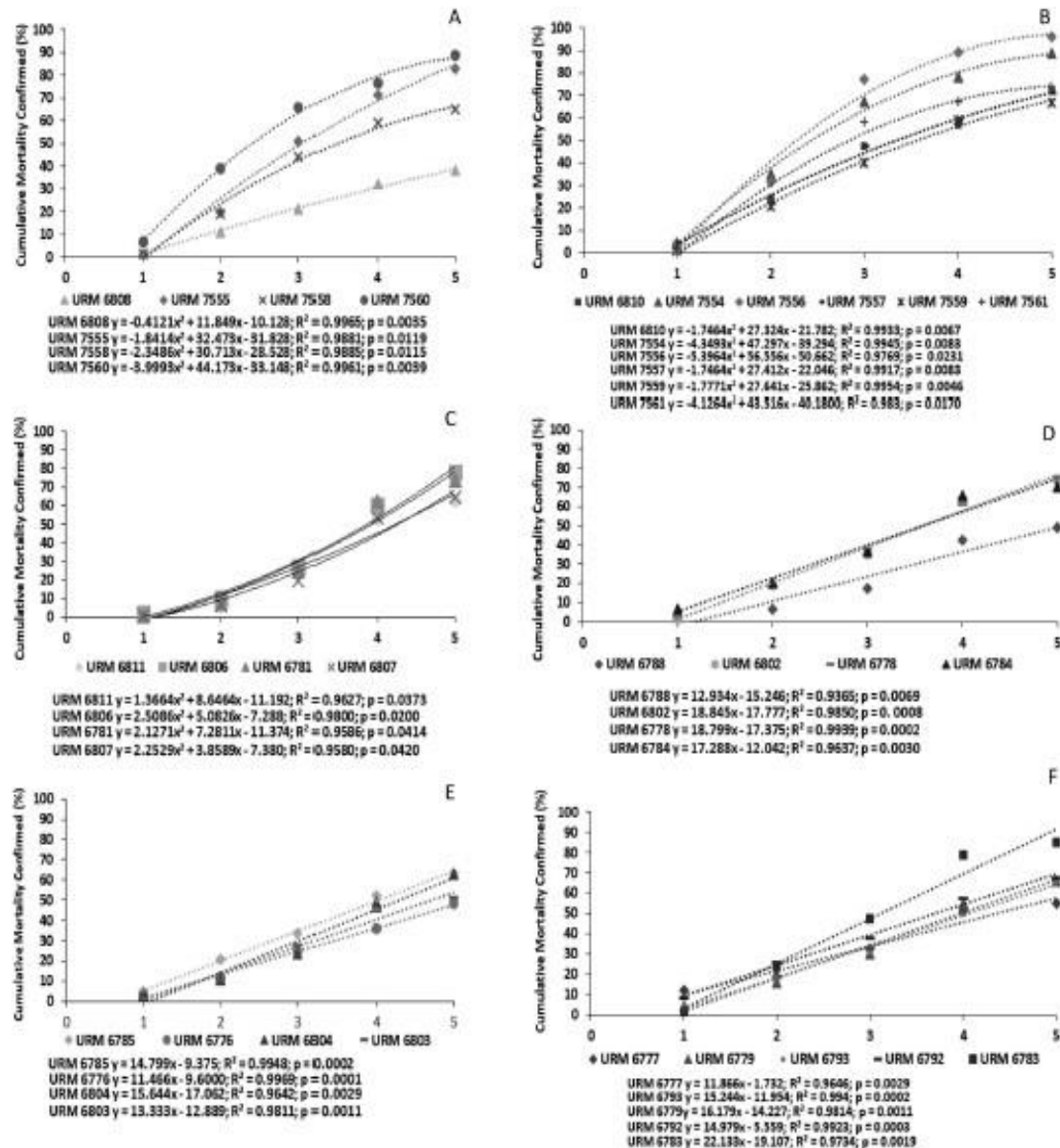


Figure 1. Accumulated mortality confirmed during five days of evaluation, represented by quadratic regressions for *Fusarium sulawesiense* (A); *Fusarium pernambucanum* (B) and *Fusarium coatingaense* (C) and linear for *Fusarium coatingaense* (D, E and F) isolates after application of 1×10^7 conidia/mL⁻¹ against *Nasutitermes corniger*.

Fusarium redolens Wollenw. (Sun and Liu 2008), *Fusarium poae* (Peck) Wollenw., *F. equiseti* (Ameen 2012) and *Fusarium heterosporum* Nees and T. Nees (Ali-Shtayeh et al. 2003) caused mortalities of less than 27%.

All isolates of FIESC produced viable conidia but were not pathogenic against *S. frugiperda*. The non-pathogenicity of the isolates tested may be associated with intrinsic and external factors which possibly interfered with the virulence of the isolates, hindering the adhesion, germination, differentiation and spore penetration stages in the insect integument (Maina et al. 2018). Such factors refer to cuticular properties such as sclerotization, thickness and presence of antifungal and nutritional

substances (Charnley 2003) which may be present in this insect and hinder the infection process. It is also important to note that insects have internal defense mechanisms that can interfere with the fungal infectious process, even after their entry into the body (Pal et al. 2007; Mora et al. 2018).

Most of the FIESC isolates studied had high confirmed mortality values against *N. corniger* termites. This is the first study to report the pathogenicity of *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. coatingaense* for this insect. The potential of fungi in *N. corniger* control was also demonstrated by Lopes et al. (2017) who when testing *Cordyceps farinosa* [= *Isaria farinosa* Fries (ESALQ1355)] observed mortality rates of 95% of workers and 85% of

soldiers. Isolates of *M. anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Cordyceps javanica* (= *Isaria javanica*) and *Penicillium* sp. were tested against *N. corniger* and caused high mortality by highlighting *C. javanica* which on the second day of evaluation caused 100% mortality (Oliveira et al. 2018). Other authors have reported the pathogenicity of *Metarhizium* spp against *Nasutitermes* species (Albuquerque et al. 2005; Salas-Acuña 2005).

According to the observations made in this study, the isolates of *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. caatingaense* showed different target-specific levels of efficacy. A similar observation was made by Sharma et al. (2018) using *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. against different insect species. *Fusarium* specificity to the host was also observed in other studies. After different *Fusarium* species were tested against *G. mellonella*, varying mortality values were reported (Ali-Shtayeh et al. 2003). The variation in mortality against the same insect was also reported by Ameen (2012) when testing different species of *Fusarium*, highlighting in the study the isolates of *Fusarium oxysporum* Schltdl. and *F. solani* with mortality rates ranging from 10% to 76% and 13% to 76%, respectively.

The efficacy of FIESC species has been demonstrated for other insects such as *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) which had lethal effects ranging from 60% to 70% mortality (Addario and Turchetti 2011). Satisfactory controlling effects of FIESC isolates were also observed by Liu et al. (2014), against *Matsucoccus matsumurae* Kuwana (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae), causing mortality of 53.67% of nymphs and 83% of adult females. Isolates of *F. equiseti* and *F. incarnatum* have been shown to be effective against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) causing the death of 100% of nymphs after 144 h of application (Anwar et al. 2017).

As observed for *N. corniger*, the pathogenicity of some *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. caatingaense* isolates was also evaluated against *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae) in the laboratory and confirmed mortality ranged from 8% to 66.66%. Three isolates of *F. caatingaense* were selected for field trials and the isolate URM 6782 stood out with 42.66% confirmed mortality (Carneiro-Leão et al. 2017). Our studies show high mortality rates against agricultural insect pests, so isolates from FIESC may be promising as biocontrol agents.

The applicability of FIESC in insect control was also evaluated by Fan et al. (2014), who not only tested the pathogenicity against *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae), but also evaluated the ability of the isolate to cause disease in cultures of *Citrus*

reticulata Blanco (Rutaceae) and *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Baker (Asparagaceae). The authors observed mortality of 91.33% of insects and reported the absence of plant pathogenicity. Other studies with *Fusarium* in addition to demonstrating satisfactory mortality rates and host specificity also reported the absence of infections in insect-attacked plants (Kuruvilla and Jacob 1980; Nagalingam and Jayaraj 1986; Mikunthan and Manjunatha 2006; Wenda-Piesik et al. 2009; Lazo 2012).

The effectiveness of *Fusarium* in insect control may be associated to production of extracellular enzymes, such as chitinase, protease and lipase, which directly influence in the virulence of the fungus, allowing it to infect insects through of integument (Abdul-Wahid and Elbanna 2012; Khan et al. 2012). Besides enzymes, the production of toxins by *Fusarium* species can help the fungus in the infectious process, conferring greater pathogenicity to the insect. Beauvericin, for example, is well known for its action against insects (Wang and Xu 2012) and has been reported in different species of *Fusarium* (Gupta et al. 1991; Logrieco et al. 1998; Shimada et al. 2010; Liuzzi et al. 2017), including members of the *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (O'Donnell et al. 2018), which reinforces its potential in insect control.

The use of fungi in termite control is considered a promising alternative, as these pathogens are slow in the colonization process, and when in contact with colony members become a source of inoculum spread, causing behavioral and physiological changes. In addition, fungal growth and development can be facilitated by constant temperature and humidity in termite subterranean galleries (Neves and Alves 2004). The pathogenicity tests performed in this study revealed that *F. sulawesiense*, *F. pernambucanum* and *F. caatingaense* species of the *F. incarnatum-equiseti* Species Complex (corresponding to the isolates URM 7560, URM 7556 and URM 6783) have potential for the control of *N. corniger*.

Acknowledgements

We thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior for the scholarship (CAPES) for Athaline G. Diniz.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

ORCID

Leonardo Vilas-Bôas Mendonça Pedreira de Cerqueira 
<http://orcid.org/0000-0002-1191-4014>

Antonio Félix da Costa  <http://orcid.org/0000-0001-9866-3504>

Patricia Vieira Tiago  <http://orcid.org/0000-0001-5771-2429>

References

- Abdul-Wahid OA, Elbanna SM. 2012. Evaluation of the insecticidal activity of *Fusarium solani* and *Trichoderma harzianum* against cockroaches; *Periplaneta Americana*. Afr J Microbiol. 6:1024–1032.
- Abreu RLS, Sales-Campos C, Hanada RE, Vasconcellos FJ, Freitas JA. 2002. Avaliação de danos por insetos em toras estocadas em indústrias madeiras de Manaus, Amazonas, Brasil. Rev Árvore. 26(6):789–796.
- Addario E, Turchetti T. 2011. Parasitic fungi on *Dryocosmus kuriphilus* in *Castanea sativa* necrotic galls. Bull Insectol. 64:269–273.
- Afonso-Rosa APS, Barcelos HT. 2012. Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho, Pelotas. Embrapa Clima Temperado; p. 9–10. (Documentos. 344).
- Albuquerque AC, Matias GRRS, Couto AVO, Oliveira MAP, Vasconcellos A. 2014. Urban termites of Recife, Northeast Brazil (Isoptera). Sociobiology. 59(1): 183–188.
- Albuquerque AC, Pereira KCA, Cunha FM, Veiga AFSL, Athayde ACR, Lima EALA. 2005. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, sobre *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). Neotrop Entomol. 34(4):585–592.
- Ali-Shtayeh MS, Mara'i A-BBM, Jamous RM. 2003. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. Mycopathologia. 156(3):235–244.
- Alves SB, Moino J, Almeida JEM. 1998. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: Alves SB, editor. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz; p. 217–238.
- Ameen MKM. 2012. Screening of *Fusarium* isolates pathogenicity in vitro by using the larvae of *Galleria mellonella* L. J Basrah Res (Sciences). 38:19–28.
- Anand R, Tiwary BN. 2009. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to eggs and larvae of *Spodoptera litura*, the common cutworm. Biocontrol Sci Technol. 19(9): 919–929.
- Anwar W, Haider MS, Shahid AA, Mushtaq H, Hameed U, Rehman MZU, Iqbal MJ. 2017. Genetic diversity of *Fusarium* isolated from members of *Sternorrhyncha* (Hemiptera): entomopathogens against *Bemisia tabaci*. Pak J Zool. 49(2):639–645.
- Baidoo PK, Ackuaku SK. 2011. The effects of spore concentrations of entomogenous fungi on larval mortality and development of the maize stem borer *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). J Appl Biosci. 47:3221–3229.
- Barros EM, Torres JB, Bueno AF. 2010. Oviposition, development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. Neotrop Entomol. 39(6):996–1001.
- Bateman ML, Day RK, Luke B, Edgington S, Kuhlmann U, Cock MJW. 2018. Assessment of potential biopesticide options for managing fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Africa. J Appl Entomol. 142(9):805–819.
- Bolzan A, Padovez FEO, Nascimento ARB, Kaiser IS, Lira EC, Amaral FSA, Kanno RH, Malaquias JB, Omoto C. 2019. Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole and cross-resistance to other diamide insecticides. Pest Manag Sci. 75(10): 2682–2689.
- Carneiro FF, Augusto LGS, Rigotto RM, Friedrich K, Búrigo AC. (Org.). 2015. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular; 624 pp.
- Carneiro-Leão MP, Tiago PV, Medeiros LV, Costa AF, Oliveira NT. 2017. *Dactylopius opuntiae*: control by the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and confirmation of mortality by DNA fingerprinting. J Pest Sci. 90(3):925–933.
- Charnley AK. 2003. Fungal pathogens of insects: cuticle degrading enzymes and toxins. Adv Bot Res. 40: 241–321.
- Constantino R. 1999. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. Pap Avulsos Zool. 40:387–448.
- Constantino R. 2002. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. J Appl Entomol. 126(7–8):355–365.
- Costa-Leonardo AM. 2002. Cupins-Praga: morfologia, biologia e controle. Rio Claro: DIVISA; p. 128.
- Diniz AG, Barbosa L, Santos A, Oliveira N, Costa AF, Carneiro-Leão MP, Tiago PV. 2020. Bio-insecticide effect of isolates of *Fusarium caatingaense* (Sordariomycetes: Hypocreales) combined to botanical extracts against *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). Biocontrol Sci technol. doi:10.1080/09583157.2020.1720601.
- Evans TA, Forschler BT, Grace JK. 2013. Biology of invasive termites: a worldwide review. Annu Rev Entomol. 58:455–474.
- Fan JH, Xie YP, Xue JL, Xiong Q, Jiang WJ, Zhang Y, Ren Z. 2014. The strain HEB01 of *Fusarium* sp., a new pathogen that infects brown soft scale. Ann Microbiol. 64(1):333–341.
- Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciênc Agrotec. 35(6):1039–1042.
- Figueiredo MLC, Martins-Dias AMP, Cruz I. 2006. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. Pesq Agropec Bras. 41(12):1693–1698.
- Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamò M. 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), a new alien invasive pest in west and central Africa. PLoS One. 11(10):e0165632.
- Greene GL, Lepla NC, Dickerson WA. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J Econ Entomol. 69:488–497.
- Gupta S, Krasnoff SB, Underwood NL, Renwick JA, Roberts DW. 1991. Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. Mycopathologia. 115(3): 185–189.
- Jayasimha GT, Rachana RR, Rajkumar VB, Manjunatha M. 2012. Evaluation of fungal pathogen *Fusarium semitectum* Berk and Ravenel against okra aphid. *Aphis gossypii* Glover under laboratory and green house conditions. Pest Manage Hortic Ecosyst. 18:139–142.
- Jessica JJ, Peng TL, Sajap AS, Lee SH, Syazwan SA. 2019. Evaluation of the virulence of entomopathogenic

- fungus, *Isaria fumosorosea* isolates against subterranean termites *Coptotermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae). *J Res.* 30(1):213–218.
- Khan S, Guo L, Maimaiti Y, Mijit M, Qiu D. 2012. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. *Mol Plant Breed.* 3:63–79.
- Kuruvilla S, Jacob A. 1980. Studies on *Fusarium oxysporum* Schlecht infecting rice brown plant hopper. Nilaparvata Lugens Stal. *Agric Res J Kerala.* 18:51–54.
- Lazo MLR. 2012. Caracterização e patogenicidade de fungos entomopatogênicos isolados do percevejo-bronzeado do eucalipto (Hemiptera: Thaumastocoridae) [Unpublished master's thesis]. Faculdade de Ciências Agrônomicas of Universidade Estadual Paulista.
- Legendre F, Nel A, Svenson GJ, Robillard T, Pellens R, Grandcolas P. 2015. Phylogeny of Dictyoptera: Dating the origin of cockroaches, praying mantises and termites with molecular data and controlled fossil evidence. *PLoS One.* 10(7):e0130127.
- Liu W, Xie Y, Dong J, Xue J, Zhang Y, Lu Y, Wu J. 2014. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi to *Matsucoccus matsumurae*. *PLoS One.* 9(7):e103350.
- Liuzzi VC, Mirabelli V, Cimmarusti MT, Haidukowski M, Leslie JF, Logrieco AF, Caliendo R, Fanelli F, Mule G. 2017. Enniatin and Beauvericin biosynthesis in *Fusarium* species: Production profiles and structural determinant prediction. *Toxins.* 9(2):45.
- Logrieco A, Moretti A, Castella G, Kostedki M, Golinski P, Ritieni A, Chelkowski J. 1998. Beauvericin production by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol.* 64(8):3084–3088.
- Lopes RS, Lima G, Correia MTS, Costa AF, Lima EALA, Lima VLM. 2017. The potential of *Isaria* spp. as a bio-insecticide for the biological control of *Nasutitermes corniger*. *Biocontrol Sci Technol.* 27(9):1038–1048.
- Maina UM, Galadima IB, Gambo FM, Zakaria D. 2018. A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. *J Entomol Zool Stud.* 6:27–32.
- Maryani N, Sandoval-Denis M, Lombard L, Crous PW, Kema GHJ. 2019. New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia.* 43(1):48–69.
- Mikunthan G, Manjunatha M. 2006. Pathogenicity of *Fusarium semitectum* against crop pests and its biosafety to non-target organisms. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 71(2 Pt B):465–473.
- Mohanty SS, Raghavendra K, Rai U, Dash AP. 2008. Efficacy of female *Culex quinquefasciatus* with entomopathogenic fungus *Fusarium pallidroseum*. *Parasitol Res.* 103(1):171–174.
- Mora MAE, Castilho AMC, Fraga ME. 2018. Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. *Arq Inst Biol.* 84:1–10.
- Moura JZ, Pádua LEM, Silva PRR, Silva AA, Maggioni K. 2012. Extrato de folhas de *Anadenanthera macrocarpa* sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial. *Comun Sci.* 3:249–254.
- Munshi NA, Hussain B, Malik GN, Yousuf M, Fatima N. 2008. Efficacy of entomopathogenic fungus *Fusarium pallidroseum* (Cooke) Sacc. against gypsy moth (*Lymantria obfuscata* Walker). *J Entomol.* 5(1):59–61.
- Nagalingam B, Jayaraj S. 1986. First record of *Fusarium semisepticum* Berk. and Rav. as an entomophagous fungus. *Curr Sci.* 55:377–378.
- Neves PMOJ, Alves SB. 2004. External events related to the infection process of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the entomo-pathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Neotrop Entomol.* 33(1):51–56.
- O'Donnell K, Humber RA, Geiser DM, Kang S, Park B, Robert VARG, Crous PW, Johnston PR, Aoki T, Rooney AP, et al. 2012. Phylogenetic diversity of insecticidal fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and Fusarium MLST. *Mycologia.* 104(2):427–445.
- O'Donnell K, McCormick SP, Busman M, Proctor RH, Ward TJ, Doehring G, Geiser DM, Alberts JF, Rheeder JP. 2018. Marasas et al. 1984 "Toxicogenic *Fusarium* Species: Identity and Mycotoxicology" revisited. *Mycologia.* 110(6):1058–1080.
- Oliveira GF, dos S, Gonzaga AD, Assunção EN, Souza AQL, Azevedo JL. 2018. Ação patogênica de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* e *Penicillium* sp. contra *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Isoptera: Termitidae) no Amazonas. *Scientia Amazonia.* 7:B7–B11.
- Pal S, St. Leger RJ, Wu LP. 2007. Fungal peptide destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *J Biol Chem.* 282(12):8969–8977.
- Panyasiri C, Attathom T, Poehling HM. 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi-potential candidates to control insect pests on tomato under protected cultivation in Thailand. *J Plant Dis Prot.* 114(6):278–287.
- Pogue M. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Mem Am Entomol Soc.* 43:1–202.
- Pratissoli D, Thuler RT, Pereira FF, Reis EF, Ferreira AT. 2004. Ação transovariana de Lufenuron (50 G/L) sobre adultos de *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciênc Agrotec.* 28(1):9–14.
- Ribeiro LP, Dequech STB, Camera C, Sturza VS, Poncio S, Vendramim JD. 2014. Vertical and temporal distribution of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses, parasitized and non-parasitized, on maize plants. *Maydica.* 59:1–6.
- Rodrigues JHV, Angelini MR, Oliveira RS, Queiroz AA. 2018. Efeito de doses de silício na resistência do feijoeiro a *Spodoptera frugiperda*. *Rev Agric Neotrop.* 5(4):13–19.
- Salas-Acuña B. 2005. Posibilidades de control de *Nasutitermes corniger* utilizando el hongo entomopatogénico *Metarhizium* sp. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú.* 2:16–21.
- Santos AC, Diniz AG, Tiago PV, Oliveira NT. 2019. Entomopathogenic *Fusarium* species: a review of their potential for the biological control of insects. *Implications Andprospects. Fungal Biol.Rev.* doi:10.1016/j.fbr.2019.12.002.
- Santos ACS, Oliveira RLS, Costa AF, Tiago PV, Oliveira NT. 2016. Controlling *Dactylopius opuntiae* with *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and extracts of *Ricinus communis* and *Poincianella pyramidalis*. *J Pest Sci.* 89(2):539–547.
- Sarmiento RA, Aguiar RS, Aguiar RASS, Vieira SMJ, Oliveira HG, Holtz AM. 2002. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda*

- (Lepidoptera: Noctuidae) em milho no Brasil. Biosci J. 18:41–48.
- Scheffrahn RH, Cabrera BJ, Kern WH Jr., Su N-Y. 2002. *Nasutitermes costalis* (Isoptera: Termitidae) in Florida: first record of a non-endemic establishment by a higher termite. Florida Entomol. 85(1):273–275.20.CO;2]
- Scheffrahn RH, Jones SC, Krecek J, Chase JA, Mangold JR, Su N-Y. 2003. Taxonomy, distribution, and notes on the termites (Isoptera: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, and Termitidae) of Puerto Rico and the U.S. Virgin Islands. Ann Entomol Soc Am. 96(3): 181–201.
- Scheffrahn RH, Krecek J, Szalanski AL, Austin JW. 2005. Synonymy of the neotropical arboreal termites, *Nasutitermes comiger* and *N. costalis* (Isoptera: Termitidae), with evidence from morphology, genetics, and biogeography. Ann Entomol Soc Am. 98(3): 273–281.
- Sharanabasappa Kalleshwaraswamy CM, Asokan R, Swamy HMM, Maruthi MS, Pavithro HB, Hegde K, Navi S, Prabhu ST, Goergin G. 2018. First report of fall army worm. *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) an alien invasive pest on maize in India. Pest Manage Hortic Ecosyst. 24:23–29.
- Sharma A, Chandla VK, Thakur DR. 2012. Biodiversity and pathogenicity potential of mycoflora associated with *Brahmina coriacea* in potato fields of North-Western Indian Hills. J Entomol. 9(6):319–331.
- Sharma L, Gonçalves F, Oliveira I, Torres L, Marques G. 2018. Insect-associated fungi from naturally mycosed vine mealybug *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae). Biocontrol Sci Technol. 28(2): 122–141.
- Shimada A, Fujioka S, Koshino H, Kimura Y. 2010. Nematicidal activity of beauvericin produced by the fungus *Fusarium bulbicola*. Z Naturforsch C J Biosci. 65(3–4):207–210.
- Silva DM, Bueno AF, Andrade K, Stecca CS, Neves PMOJ, Oliveira MCN. 2017. Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. Sci Agric (Piracicaba, Braz) 74(1):18–31.
- Sparks AN. 1979. A review of the biology of the fall armyworm. Fla Entomol. 62(2):82–87.
- Sun B-D, Liu X-Z. 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. Appl Soil Ecol. 39(1):100–108.
- Teotor-Barsch GH, Roberts DW. 1983. Entomogenous *Fusarium* species. Mycopathologia. 84(1):3–16.
- Tiago PV, Medeiros LV, Carneiro Leão MP, Santos ACDS, da Costa AF, de Oliveira NT. 2016. Polymorphisms in entomopathogenic fusaria based on inter simple sequence repeats. Biocontrol Sci Technol. 26(10):1401–1410.
- Verma M, Sharma S, Prasad R. 2009. Biological alternatives for termite control: a review. Int Biodeter Biodegr. 63(8):959–972.
- Wang Q, Xu L. 2012. Beauvericin, a bioactive compound produced by fungi: a short review. Molecules. 17(3): 2367–2377.
- Wenda-Piesik A, Sun Z, Grey WE, Weaver DK, Morrill WL. 2009. Mycoses of wheat stem sawfly (Hymenoptera: Cephidae) larvae by *Fusarium* spp. isolates. Environ Entomol. 38(2):387–394.
- Zorzenon FJ, Potenza MR. (Coords.) 1998. Cupins: pragas em áreas urbanas, São Paulo: Instituto Biológico; 46. p. (Boletim Técnico. 10).

APÊNDICE B

ARTIGO 2: A SER SUBMETIDO A CROP PROTECTION – ISSN:0261-2194 – QUALIS A2 – FATOR DE IMPACTO - 3.036 – DINIZ, A.G. et al. POTENTIAL OF *Fusarium caatingaense* COMBINED WITH EXTRACTS OF *Nicotiana tabacum* AND *Ricinus communis* IN THE CONTROL OF *Dactylopius opuntiae* (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE) IN THE FIELD

Athaline Gonçalves Diniz¹, Roberta de Freitas Grasse¹, Mariele Porto Carneiro Leão¹, Antonio Félix da Costa², Patricia Vieira Tiago¹

¹Department of Mycology, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brazil. ²Instituto Agrônomo de Pernambuco, Recife-PE, Brazil.

Correspondence: Patricia Vieira Tiago, Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, 50670-901, Brazil. E-mail: patricia.tiago@ufpe.br

Abstract

Dactylopius opuntiae Cockerell is a phytophagous insect of the order Hemiptera, which feeds on the prickly pear *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. The action of cochineal on the prickly pear is devastating and can lead to the plant's death. The use of pesticides is the main form of control for this pest. Studies carried out by our research group with *Fusarium caatingaense* isolates combined with *Ricinnus communis* and *Nicotiana tabacum* extracts in the control of *D. opuntiae* in laboratory and greenhouse identified efficient treatments, which were indicated for field tests. In this study, we evaluated the effectiveness of *F. caatingaense* isolates URM 6778 and URM 6779 combined with aqueous extracts of *Ricinnus communis* 5% and *Nicotiana tabacum* 10%, respectively, against *D. opuntiae* in the field. The experimental design was completely randomized, with 8 treatments: URM 6778, URM 6779, aqueous extract of *R. communis* 5%, aqueous extract of *N. tabacum* 10%, URM 6778 + aqueous extract of *R. communis* 5%, URM 6779 + aqueous extract of *N. tabacum* 10%, 2% detergent and control (sterilized distilled water containing only 0.01% Tween 80). Each treatment had three repetitions and the experiments were repeated three times. The botanical extracts underwent phytochemical screening to identify biologically active chemical compounds. Total mortality was evaluated under a stereomicroscope, observing the amount of dead and alive insects. A total of 180 insects were evaluated per treatment, 60 insects per cladode, counted in three 8×8 quadrants, 20 insects per quadrant. Total mortality data were corrected by the Schneider-Orelli formula. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by Tukey test at 5% probability, using the Sisvar 5.6 program. The phytochemical screening of *R. communis* and *N. tabacum* showed for both extracts the presence of alkaloids, flavonoid glycosides, saponins and tannins. The combined treatments were considered effective for the control of *D. opuntiae* in the field, with an observed mortality of 90.82% for URM 6779 + *N. tabacum* at 10% and 82.11% for the combination of URM 6778 + *R. communis* at 5%.

Keywords: Entomopathogenic Fungi, Botanical Extracts, Combined Control, Pest Insects, Cochineal scale; Prickly pear.

1. Introduction

Dactylopius opuntiae Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae) is a phytophagous insect, which parasitizes cactaceae of the genera *Opuntia* and *Nopalea*, having preference for the species *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Caryophyllales: Cactaceae) (Chavez-Moreno et al., 2009). The prickly pear *O. ficus-indica* is the main food source for herds of goats, sheep and cattle, in long periods of drought in the Northeast of Brazil (Torres e Giorgi, 2018). When not controlled, the action of *D. opuntiae* on *O. ficus-indica* can cause losses of up to one fifth of cultivated areas (Torres and Giorgi, 2018) and in extreme cases, lead to total loss of the plantation (Chiacchio, 2008).

The control of *D. opuntiae* is done through the application of organophosphate insecticides, which have harmful effects on the health of men and animals, and cause damage to the environment (Badii e Flores 2001; Galloway e Handy 2003). However, less aggressive forms of control have been studied, such as the use of entomopathogenic fungi, plant extracts and the combination of both control agents (Vigueras et al., 2009; Santos et al., 2011; Santos et al., 2017; Velez et al., 2019; Diniz et al., 2020a; Oliveira et al., 2020).

Entomopathogenic fungi are capable of controlling different stages of development of the host, penetrating through several pathways of the integument, dispersing horizontally (Alves e Lopes 2008). While plant extracts, compared to pure compounds, have low toxicity, have different modes of action, are easily degradable, come from renewable sources and offer less resistance to insect pests (Menezes-aguiar, 2005; Mendes et al., 2017). Both forms of control are advantageous alternatives to chemical control, moreover, when applied simultaneously they can have their action potentiated (Islam et al., 2011; Bontempo et al., 2011; Nana et al., 2017; Santos et al., 2017; Velez et al., 2019).

The *Fusarium* genus is known as a producer of mycotoxins, often toxic to humans and animals depending on the level of exposure, in addition to presenting pathogenic species to plants (Summerell e Leslie, 2011; Antonissen et al., 2014; O'Donnell et al., 2018). However, studies have shown the existence of different *Fusarium* species found in associations with insects, in symbiotic, saprophytic relationships, in natural epizootics and as opportunistic pathogens (Sharma and Marques, 2018). The *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (FIESC) has a large number of species pathogenic to insects (Santos et al., 2020). The pathogenicity of different species of this complex was analyzed against insect pests of orders such as Thysanoptera (Panyasiri et al., 2007), Lepidoptera (Munshi et al., 2008), Diptera (Mohanty et al., 2008), Hymenoptera (Wenda- Piesik et al., 2009), Coleoptera (Sharma et al., 2012), Blattodea (Diniz et al., 2020b) and Hemiptera, the latter with the most promising results (Santos et al., 2020).

When carrying out studies under controlled conditions (laboratory and greenhouse), our research group verified the efficacy of *Fusarium caatingaense* isolates Santos, Lima, Tiago & Oliveira (= FIESC 20) combined with different plant extracts in the control of *D. opuntiae*. The

works developed, selected as promising the combinations URM 6778 + aqueous extract of *Ricinus communis* at 5% with 100% corrected mortality (Santos et al., 2017 and URM 6779 + aqueous extract of *Nicotiana tabacum* at 10% with total mortality of 96.83% in the laboratory and 98.67% in the greenhouse (Diniz et al., 2020a).

Despite the combined use of *F. caatingaense* isolates with extracts of *R. communis* and *N. tabacum* have been effective in controlling *D. opuntiae* under controlled conditions (Santos et al., 2016; Diniz et al., 2020), information from these combined agents in real pest conditions are needed. Thus, the present study evaluated the effectiveness of URM 6778 + aqueous extract of *R. communis* at 5% and URM 6779 + aqueous extract of *N. tabacum* at 10% against *D. opuntiae* in the field.

2. Materials and methods

2.1 Obtaining the aqueous extract of *Ricinus communis* and *Nicotiana tabacum* and phytochemical screening

To obtain the aqueous extract of *R. communis* leaves were dried in a greenhouse at room temperature for eight days. After drying, the plant material was ground in a Wiley TE-680 type grinder. The obtained vegetable powder was used to prepare the extract at an initial concentration of 30% (w/v). Aqueous *N. tabacum* extract was also prepared at a concentration of 30% (w / v). 300 g of commercially processed 'roll' tobacco were immersed in 1 L of boiling water (100 ° C) for 2 h, without stirring (Celoto, 2008). The extracts obtained were sterilized in flowing steam for 15 minutes and diluted at the working concentrations, 5% and 10% respectively.

For phytochemical screening approximately 3 mL of *n*-hexane was added to test tubes containing the different concentrations of the lyophilized extract. The tubes were vortexed for 1-2 minutes and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. Hexane fractions and precipitates were subjected to Thin Layer Chromatography (TLC) to detect coumarins, flavonoids, tannins and terpenes (Wagner & Bladt, 2009). The presence of alkaloids was investigated from precipitation tests with Dragendorff's reagent. For saponins, the precipitates were solubilized in water and stirred vigorously for 15 seconds. Persistent appearance of foam lasting for at least 15 minutes confirm the presence of saponins (Amrouche et al., 2014).

2.2 Preparation and evaluation of *Fusarium caatingaense* isolates taken to the field

To ensure the viability and virulence of *F. caatingaense* isolates, these were reinvigorated using the termite arboricula *Nasutitermes corniger* Motschulsky (Blattodea: Termitidae) as host insect. After reinvigoration, the isolates were cultivated in Potato Dextrose Agar (PDA) medium and incubated in bio-oxygen demand (BOD) ($26 \pm 2^\circ\text{C}$) for eight days, in order to obtain suspensions of conidia for growth in rice. Rice grains were sterilized in Erlenmeyer flasks (100 g of rice / 50 mL of distilled water) at a temperature of 121°C for 30 minutes. After the fungi had grown in rice, suspensions of 1×10^7 conidia/mL were prepared for application of the isolates in the field.

For the three bioassays carried out in the field, the quantification of conidia per gram of rice was evaluated by weighing one gram of rice of each isolate, followed by suspension in 100mL of Tween 80 (0.01%) and manual shaking for one minute, to disaggregate the conidia. Spore counting was performed in a Neubauer chamber. Conidia viability was evaluated by inoculating 30 μL of 1×10^7 conidia/mL suspensions of each of the isolates in three Petri dishes with PDA medium. After 14 hours of incubation in BOD ($26 \pm 2^\circ\text{C}$), 200 conidia were counted per repetition, verifying the germinated and non-germinated under an optical microscope. Conidia that produced a germ tube were considered viable. The purity of the isolates was evaluated by inoculating 10 μL of the same suspension in PDA medium. After 96 hours of incubation in BOD ($26 \pm 2^\circ\text{C}$) the presence/absence of contaminants was observed (Alves, 1986).

2.3 Evaluation of the combined effect of *Fusarium caatingaense* with extracts of *Ricinus communis* and *Nicotiana tabacum* in the control of *Dactylopius opuntiae* in the field

The field experiment was carried out at the Experimental Station of the Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) located in the city of Arcoverde-PE. The experimental design was completely randomized, with 8 treatments [URM 6778, URM 6779, aqueous extract of *R. communis* at 5%, aqueous extract of *N. tabacum* at 10%, URM 6778 + aqueous extract of *R. communis* at 5%, URM 6779 + aqueous extract of *N. tabacum* at 10%, 2% detergent and control (sterilized distilled water containing only Tween 80 (0.01%)). Each treatment had three repetitions.

To carry out the experiment, prickly pear cladodes were planted in plots consisting of four rows of three and a half meters in length, with a spacing of one meter between them and 0.5m between the plants. The cladodes were infested by cochineal nymphs and after 45 days, they were ready for use. A total of 20mL of each treatment was sprayed on three cladodes of different plants infested by cochineal. The 2% neutral detergent was applied before the treatments in order to reduce the amount of wax present in the cochineal scale and facilitate the contact of the fungi/extracts with the insect integument. Detergent alone was also considered a treatment. After 10 days of application

of the treatments, the cladodes were collected and taken to the laboratory of Phytopathogenic Fungi and Biocontrollers, located in the Department of Mycology at the Federal University of Pernambuco. Total mortality was evaluated under a stereomicroscope, observing the amount of dead and alive insects, which were differentiated by characteristics such as color and turbidity. One hundred and eighty insects per treatment were evaluated, 60 insects per cladode, which were counted in three 8×8 quadrants, 20 insects per quadrant. The experiment was carried out in the field three times. Corrected mortality was calculated from total mortality data using the Schneider-Orelli formula (Püntener, 1981).

2.4 Statistical analysis

The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and means compared by Tukey test at 5% probability, using the statistical program Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011). The interactions of the combined control agents were evaluated by applying mortality data to the formula described by Koppenhöfer et al. (2000) as follows: $\chi^2 = (MFEXT - ME)^2 / ME$; where MFEXT is the mortality caused by the combination of the fungus with the extract; ME is the expected mortality. $ME = MF + MEXT * (1 - MF / 100)$; MF represents the mortality caused by the fungus; and MEXT represents the mortality caused by exposure to the extract. When the calculated value of χ^2 exceeds the table value (3.84 for a degree of freedom, $p < 0.05$), interactions between control agents are considered non-additive, synergistic or antagonistic (Finney, 1964). Interactions are considered synergistic when $D = MFEXT - ME$ result in a positive value and significantly antagonistic when D is negative. D is considered significant at $p < 0.05$. If the χ^2 test is not significant, the effects are considered additive.

3. Results

The production of conidia per gram of rice was 1.84×10^8 for URM 6778 and 1.91×10^8 for URM 6779. Such isolates proved to be viable, with germination values of 92.16% and 95.17% and purity of 100%, respectively (Table 1). Phytochemical screening of aqueous extracts of *R. communis* at 5% and *N. tabacum* at 10% identified the presence of alkaloids, flavonoid glycosides, saponins and tannins, while coumarins and terpenes were not observed (Table 2).

The combination of URM 6779 + 10% *N. tabacum* aqueous extract was considered the most effective for the control of *D. opuntiae* in the field, with a total mortality of 90.82%. When tested alone, the isolate URM 6779 and the aqueous extract of *N. tabacum* at 10% showed statistically equivalent efficacy, with a mortality of 70.63% and 76.23% respectively (Table 1). The combination of URM 6778 + 5% aqueous extract of *R. communis* was also considered promising,

with a total mortality of 82.11% of insects. The effectiveness of the agents alone was similar, with a mortality of 59.25% for URM 6778 and 62.97% for the aqueous extract of *R. communis* at 5%. The simultaneous use of the field-tested control agents resulted in an additive interaction. The 2% detergent, which was also used as a pre-treatment for cochineal scale infested cladodes, had 0% corrected total mortality.

4. Discussion

The isolates URM 6778 and URM 6779 of *F. caatingaense* combined with extracts of *R. communis* and *N. tabacum*, respectively, showed efficacy in the control of *D. opuntiae* in the field. A similar study, using only *F. caatingaense* to control *D. opuntiae* in the field, highlighted the isolates URM 6782, URM 6778 and URM 6811 as the most promising, with confirmed mortality of 42.7%, 40.7% and 14.0% respectively (Carneiro-Leão et al., 2017). Field studies using the combination of fungi and extracts to control insect pests are scarce and non-existent for the control of *D. opuntiae*, making it difficult to compare our results with those of similar studies.

Different studies have reported the effectiveness of entomopathogenic fungi against pest insects in the field. When testing *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in the control of the grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae) Magalhães et al. (2000) reported a mortality of 88% of insects 14 days after application of the treatment. In a field study Sahayaraj and Namachivayam (2011) tested different species of fungi against different species of insects. The authors reported a reduction in the population of *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) of up to 62% after application of *Verticillium lecani*, while the population of *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) was reduced by up to 72% after application of *Beauveria bassiana* Balsamo. In this same study, infestations of *S. litura* and *Aproaerema modicella* Deventer (Lepidoptera: Gelechiidae) were significantly reduced after treatment with *B. bassiana*. Other field studies using *B. bassiana* have reported its efficacy against different pest insects (Liu et al., 2013; Wakil and Schmitt, 2015).

In this study, extracts and fungi applied individually showed similar efficacy in cochineal scale. The action of the extracts on *D. opuntiae* may be partially associated with the presence of flavonoid glycosides, alkaloids, tannins and saponins. Such compounds have been reported in the literature with larvicidal and insecticidal activities (Wafa et al., 2014; Ribeiro et al., 2016; Franke et al., 2019). Regarding the insecticidal effect of *R. communis* leaf extract, this may also be associated with the presence of ricinin, a neurotoxic alkaloid found throughout the plant, which can paralyze and kill insects (Pinkerton et al., 1999; Ferraz, 1999). For the extract of *N. tabacum*, it is possible that its action against *D. opuntiae* is associated with nicotine, a substance that affects the nervous

system of insects, making them susceptible to infection by entomopathogenic fungi (Loiseleu, 2017; Diniz et al., 2020).

The efficacy of entomopathogenic *Fusarium* species may be associated with the presence of enzymes such as lipase, chitinase and protease (Abdul-Wahid and Elbanna 2012; Khan et al., 2012). In addition to enzyme production, toxins such as Beauvericin, reported in representatives of the *Fusarium incarnatum-equiseti* Species Complex (Gupta et al., 1991; Logrieco et al., 1998; Shimada et al., 2010; Liuzzi et al., 2017; O'Donnell et al. 2018), may influence the pathogenicity of the fungus against insects (Wang and Xu, 2012). The production of fusaric, picolinic and dipicolinic acids by some *Fusarium* species may also contribute to greater pathogenicity against insects (Claydon & Grove, 1982; Turner & Aldridge, 1983; Bacon et al., 1996). However, despite the great potential of *Fusarium* in insect control, some species can produce microtoxins capable of contaminating food and feed, causing toxic effects to humans and animals (Antonissen et al., 2014; O'Donnell et al., 2018). Some species can also be pathogenic to plants (Kvas et al., 2009; Summerell and Leslie, 2011).

Despite the negative effects observed for certain *Fusarium* species, the applicability of these fungi in insect control may be viable. Some species show high mortality rates and host specificity and do not infect plants attacked by insects (Kuruville and Jacob 1980; Nagalingam and Jayaraj 1986; Mikunthan and Manjunatha 2006; Wenda-Piesik et al. 2009; Lazo 2012; Santos et al., 2020). Fan et al. (2014), tested the pathogenicity of the FIESC strain HEB01 against *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae), and also evaluated its ability to cause disease in citrus crops. The authors reported a mortality rate of 91.33% of insects and absence of phytopathogenicity. In testing the phytopathogenicity of FIESC isolates including URM 6778 and URM 6779, Maciel et al. (2021) reported the inability of the isolates to cause disease in maize (*Zea mays*) and beans (*Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata* and *Phaseolus luningsatus*).

The combined use of the control agents tested in this study exceeded the mortality observed for these applied individually, and additive effects were observed. The isolate URM 6779 + aqueous extract of *N. tabacum* at 10%, previously tested in a greenhouse against *D. opuntiae*, also showed an additive interaction (Diniz et al., 2020). Additive interactions were also observed by Barbosa et al. (2021), by combining aqueous extract of *R. communis* at 5% with *Fusarium volatile* (URM 8051) and *Fusarium proliferatum* (URM 8044). Velez et al. (2019), reported in their study additive interactions for the combination of *Chenopodium ambrosioides* and *Enterolobium contortisiliquum* extracts with different *Fusarium* isolates. In additive interactions, control agents act independently in a combined infection (Correa-Cuadros, Saenz-Aponte, & Rodriguez-Bocanegra, 2016), leading to an increase in insect mortality, compared to the individual use of these agents, without any synergistic action.

Although the results observed in this study are promising, additional information is needed. Investigations into the pathogenicity of the isolates and the action of extracts on other crops and on non-target insects are important. As well as the identification of toxic metabolites of both control agents for humans and animals. Furthermore, studies to develop a formulation with desired longevity and efficacy are needed.

Table 1. Conidia production per g of rice, viability and purity of *Fusarium caatingaense* isolates taken to the field.

Isolates	Conidia production/g of rice ($n \times 10^8$) $\pm$ S.E.	Conidia viability (%) $\pm$ S.E.	Purity (%)
URM 6779	1.91 $\pm$ 0.10	95.17 $\pm$ 0.76	100
URM 6778	1.84 $\pm$ 0.04	92.16 $\pm$ 1.48	100

Standard error = S.E.

Table 2. Phytochemical analysis of aqueous extract of *Ricinus communis* and *Nicotiana tabacum*.

Phytoconstituents	Botanical extracts	
	<i>Ricinus communis</i> 5%	<i>Nicotiana tabacum</i> 10%
Coumarins	-	-
Flavonoid glycosides	+	+
Terpenes	-	-
Tannins	+	+
Alkaloids	+	+
Saponins	+	+

+ = Present; - = Absent.

Table 3. Total mortality of *Dactylopius opuntiae* (mean percentage $\pm$ S.E. = Standard error) caused by the aqueous extracts of *Ricinus communis* at 5% and *Nicotiana tabacum* at 10% combined with isolates URM 6778 and URM 6779 from *Fusarium caatingaense* respectively.

Treatments	Mortality Total (%)	Expected Mortality	X ² (Chi- square) (d.f. = 1)	Interaction between control agents
Control		-	-	-
Detergent 2%	0.0	-	-	-
Aqueous extract of <i>R. communis</i> at 5%	62.07 $\pm$ 1.11 d	-	-	-
URM 6778	59.25 $\pm$ 1.56 d	-	-	-
URM 6778 + Aqueous	82.11 $\pm$ 1.15 b	85.54	2.65	Additive

extract of *R. communis* at
5%

Aqueous extract of <i>Nicotiana tabacum</i> at 10%	70.63± 0.31 c			
URM 6779	76.26 ± 2.02 bc	-	-	-
URM 6779 + Aqueous extract of <i>Nicotiana</i> <i>tabacum</i> at 10%	90.82 ± 1.65 a	93.03	2.29	Additive

Means followed by the same letter do not differ significantly (Tukey test: $P < 0.05$).

Referências

- Alves, B. S., Lopes, R. B., 2008. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios. *Piracicaba: FEALQ*. Vol.14, p.69-104.
- Antonissen, G., Martel, A., Pasmans, F., Ducatelle, R., Verbrugghe, E., Vandenbroucke, V., Li, S., Haesebrouck, F., Van Immerseel, F., Croubels, S., 2014. The impact of *Fusarium* mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. *Toxins* 6: 430-452.
- Badii, M. H., Flores, A. E., 2001. Prickly pear cacti pest and their control in Mexico. *Florida Entomologist* 84: 503-505.
- Bontempo, L. F., Garcia, E., Fuga, C. G., Soares, A. P., 2011. Extrato pirolenhoso, óleo de nim e fungos entomopatogênicos no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em condições de laboratório. *Revista cerrado Agrociências* 2: 30–39.
- Carneiro, F. F., Augusto, L. G. S., Rigotto, R. M., Friedrich, K., Búrigo, A. C. (Org.), 2015. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 624 p.
- Carneiro-Leão, M. P., Tiago, P. V., Medeiros, L. V., Costa, A. F., Oliveira, N. T., 2017. *Dactylopius opuntiae*: control by the *Fusarium incarnatum–equiseti* species complex and confirmation of mortality by DNA fingerprinting. *Journal Pest Science*, 90: 925-933. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0841-4>.
- Celoto, M. I. B., Papa, M. F. S., Sacramento, L. V. S., Cleoto, F. J., 2008. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletrotichum gloesporioides*. *Acta Scientiarum*, 30: 1–5.
- Chavez-Moreno, C. K. A., Tecante, A., Casas, E. A., 2009. The *Opuntia* (Cactaceae) and *Dactylopius* (Hemiptera: Dactylopiidae) in Mexico: a historical perspective of use, interaction and distribution. *Biodiversity and Conservation* 18: 3337-3355.
- Chiacchio, F. P. B., 2008. Incidência da cochonilha do carmim em palma forrageira. *Bahia Agri'cola* 8(2):12–14

- Diniz, A. G., Barbosa, L. F. S., Santos, A. C. D. S., Oliveira, N. T. D., Costa, A. F. D., Carneiro-Leão, M. P., & Tiago, P. V., 2020. Bio-insecticide effect of isolates of *Fusarium caatingaense* (Sordariomycetes: Hypocreales) combined to botanical extracts against *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). *Biocontrol Science and Technology*, 30: 384-395.
- Fan, J. H., Xie, Y. P., Xue, J. L., Xiong, Q., Jiang, W. J., Zhang, Y. & Ren, Z., 2014. The strain HEB01 of *Fusarium* sp., a new pathogen that infects brown soft scale. *Annals of Microbiology*, 64:333-341.
- Filotas, M., Sanderson, J., Wraight, S., 2005. Compatibility and potential synergism between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the insect growth regulator azadirachtin for control of the greenhouse pests *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*. 38th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Alaska, USA, p. 81.
- Finney, D. J., 1964. Probit analysis: Statistical treatment of the sigmoid curve. London: Cambridge University Press.
- Galloway, T., Handy, R., 2003. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology* 12: 345–363.
- Islam, Md. T., Omar, D., Latif, M.A., Morshed, Md., M., 2011. The integrated use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with botanical insecticide, neem against *Bemisia tabaci* on eggplant. *African Journal of Microbiology Research*, 5: 3409–3413.
- Koppenhöfer, A. M., Brown, I. M., Gaugler, R., Grewal, P. S., Kaya, H. K., & Klein, M. G., 2000. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: Greenhouse and field evaluation. *Biological Control*, 19: 245–251.
- Landa, Z., Bohata, A., 1999. 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: 99-106.
- Liu, W., Xie, Y., Dong, J., Xue, J., Zhang, Y., Lu, Y., Wu, J., 2014. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi to *Matsucoccus matsumurae*. *PLoS ONE* 9: 1-9.
- Liu, Y. J., Liu, J., Ying, S. H., Liu, S. S., & Feng, M. G. (2013). A fungal insecticide engineered for fast per os killing of caterpillars has high field efficacy and safety in full-season control of cabbage insect pests. *Applied and environmental microbiology*, 79(20), 6452-6458.
- Lopes, E.B., Albuquerque, I.C., Brito, C.H., Batista, J.L. 2009. Velocidade de dispersão de *Dactylopius opuntiae* em palma gigante (*Opuntia ficus-indica*). *Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal*, 6: 644-649.
- Magalhaes, B. P., Lecoq, M., Faria, M. D., Schmidt, F. G. V., & Guerra, W. D. (2000). Field trial with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* against bands of the grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides* in Brazil. *Biocontrol Science and Technology*, 10(4), 427-441.

- Mazzeo, G., Nucifora, S., Russo, A., Suma, P., 2019. *Dactylopius opuntiae*, a new prickly pear cactus pest in the Mediterranean: an overview. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167: 59–72.
- Mendes, L. A., Martins, G. F., Valbon, W. R., Souza, T. S., Menini, L. Ferreira, A., Ferreira, M. F. S., 2017. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. *Industrial Crops and Products*, 108: 684-689.
- Menezes-Aguiar, E. de L., 2005. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 58 p. (Documentos, 205).
- Mohanty, S. S., Raghavendra, K., Rai, U. & Dash, A. P., 2008. Efficacy of female *Culex quinquefasciatus* with entomopathogenic fungus *Fusarium pallidorozeum*. *Parasitology Research*, 103:171-174.
- Munshi, N. A., Hussain, B., Malik, G. N., Yousuf, M., Fatima, N., 2008. Efficacy of Entomopathogenic Fungus *Fusarium pallidorozeum* (Cooke) Sacc. Against Gypsy Moth (*Lymantria obfusca* Walker). *Journal of Entomology*, 5: 59-61.
- Nana B., Pavliashvili, K., Khazaradze, R., Beruashvili, M., Betsiashvili, M., 2017. Preliminary study of selected entomopathogenic fungi for corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*, control. *Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests IOBC-WPRS Bulletin* 129: 38-42.
- O'Donnell, K., Humber, R. A., Geiser, D. M., et al., 2012. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via *FUSARIUM-ID* and *Fusarium MLST*. *Mycologia* 104: 427–445.
- O'Donnell, K., McCormick, S. P., Busman, M., Proctor, R. H., Ward, T. J., Doeiring, G., Geiser, D. M., Alberts, J. F., Rheeder, J. P., 2018. Marasas et al. 1984 “Toxigenic *Fusarium* Species: Identity and Mycotoxicology” revisited. *Mycologia* 1-23.
- Oliveira, L. G., Lopes, R. S., dos Santos, V. F., Lima, E. A. L. A., Maranhão, E. A., da Costa, A. F., 2020. Efficacy of Biocontrol Agents *Beauveria bassiana* and Plant Extracts on *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae). *Journal of Agricultural Science*, 12(1).
- Panyasiri, C., Attathom, T. & Poehling, H. M., 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi-potential candidates to control insect pests on tomato under protected cultivation in Thailand. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114: 278-287.
- Püntener, W., 1981. Manual for field trials in plant protection (2nd ed.). Agricultural Division, Ciba-Geigy.
- Ramos-López, M. A., Pérez, S., Rodríguez-Hernández, G. C., Guevara-Fefer, P., Zavala-Sánchez, M.A. 2010. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology*, 9: 1359-1365.
- Santos, A. C. S., Oliveira, R. L. S., Costa, A. F., Tiago, P. V., Oliveira, N. T., 2017. Controlling *Dactylopius opuntiae* with *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex and extracts of *Ricinus*

- communis* and *Poincianella pyramidalis*. *Journal of Pest Science*, 89: 539-547. DOI 10.1007/s10340-015-0689-4.
- Santos, P. de S., Silva, M. A. Q, Monteiroa, A. C., Gava, C. A. T. 2011. Improving photoprotection of *Beauveria bassiana* conidia for biological control of the cactus pest *Dactylopius opuntiae* in the semiarid region northeast of Brazil. *Biocontrol Science and Technology*, 21: 893–902.
- Sharma, A., Chandla, V.K., Thakur, D.R., 2012. Biodiversity and Pathogenicity Potential of Mycoflora Associated with *Brahmina coriacea* in Potato Fields of North-Western Indian Hills. *Journal of Entomology* 9: 319-331.
- Sharma, L., Marques, G., 2018. *Fusarium*, an Entomopathogen – A Myth or Reality? *Pathogens* 7, 93.
- Silva, M.B. de, Paula Junior, T.J. de, Pallini, A., 2010. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Viçosa: EPAMIG, 232 p.
- Summerell, B.A., Leslie, J.F., 2011. Fifty years of *Fusarium*: how could nine species have ever been enough? *Fungal Divers.* 50, 135e144.
- Torres, J. B., Giorgi, J. A., 2018. Management of the false carmine cochineal *Dactylopius opuntiae* (Cockerell): perspective from Pernambuco state, Brazil. *Phytoparasitica* 46: 331–340.
- Velez, B. A. A., Diniz, A. G., Barbosa, L. F. S., Santos, A. C. S., Costa, A. F., Tiago, P. V., 2019. Potential of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolates wit *Chenopodium ambrosioides* and *Enterolobium contortisiliquum* extracts to control *Dactylopius opuntiae*. *International Journal of Tropical Insect Science*. Doi: <https://doi.org/10.1007/s42690-019-00014-9>.
- Vigueras, A. L., Cibrián-Tovar, J., Pelayo-Ortiz, C., 2009. Use of botanical extracts to cotrol wnild cochineal (*Dactylopius opuntiae* Cockerell) on cactus pear. *Acta horticulturae* 811:229-234.
- Wakil W and Schmitt T 2015 Field trials on the efficacy of *Beauveria bassiana*, diatomaceous earth and Imidacloprid for the protection of wheat grains from four major stored grain insect pests *Journal of Stored Products Research* 64 160-167.
- Wenda-Piesik, A., Sun, Z., Grey, W.E., Weaver, D.K., Morrill, W.L., 2009. Mycoses of wheat stem sawfly (Hymenoptera: Cephidae) larvae by *Fusarium* spp. isolates. *Environmental Entomology* 38: 387-394.