

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO VEGETAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

FLÁVIO NEVES CELESTINO

POTENCIAL DO ÓLEO DE MAMONA E ASSOCIAÇÃO COM
Beauveria bassiana (BALS.) VUILLEMIN VISANDO O MANEJO DA
BROCA-DO-CAFÉ

ALEGRE

2011

FLÁVIO NEVES CELESTINO

POTENCIAL DO ÓLEO DE MAMONA E ASSOCIAÇÃO COM
Beauveria bassiana (BALS.) VUILLEMIN VISANDO O MANEJO DA
BROCA-DO-CAFÉ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

Coorientador: Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior

Coorientador: Prof. Dr. Adilson Vidal Costa

ALEGRE

2011

Dedico a minha família e aos meus amigos o sonho transformado em realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por mais essa vitória conquistada, pois sem ele não somos nada e não conseguimos nada.

A minha Família pelo apoio me dado nos momentos difíceis. Em especial, a minha mãe Maria José que sempre me deu apoio e acreditou nos meus sonhos, que sempre fez o possível e o impossível para me ajudar.

Ao Prof. Dr. Dirceu Pratissoli pela orientação e a oportunidade de cursar o mestrado em Produção Vegetal no CCAUFES.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior e Prof. Dr. Adilson Vidal Costa pelo apoio e colaboração.

Ao Prof. Dr. Edvaldo Fialho dos Reis pela atenção e colaboração.

Ao Prof. Fabio Ramos Alves pela atenção e por possibilitar a utilização do laboratório de Microbiologia.

Aos amigos da república CMJ: Fabio, Filipe, Ronie, Allan e Isaque.

Aos funcionários e amigos do NUDEMAFI: Dona Carlota, Carlos Magno e Leonardo, Débora, Kharen, Vando, Tiago, Marcel, João Paulo, Marquinho, Raul, Luziani, Priscila, José Romário, Fernando, Suelen, Lorena, Ingrid, Rômulo, Vitor e Eduardo Grecco.

E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 CAPÍTULO I	10
1.1 INTRODUÇÃO GERAL.....	10
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
1.2.1 A broca-do-café <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae)	12
1.2.2 Manejo fitossanitário da broca-da-café	13
1.3 REFERÊNCIAS.....	21
2 CAPÍTULO II	29
POTENCIAL DO ÓLEO DE MAMONA NO MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i> (FERRARI) (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE)	29
RESUMO	29
ABSTRACT	30
2.1 INTRODUÇÃO.....	31
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.2.1 Coleta da espécie vegetal e extração do óleo	32
2.2.2 Criação e manutenção da broca-do-café	33
2.2.3 Efeito do óleo de mamona sobre a broca-do-café	33
2.2.4 Avaliação da mortalidade diária e total	34
2.2.5 Estimativa da concentração letal CL₅₀	35
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
2.3.1 Efeito do óleo de mamona sobre a broca-do-café	35
2.3.2 Mortalidade diária e total de <i>H. hampei</i>	38
2.3.3 Concentração letal (CL₅₀) do óleo de mamona	41
2.4 CONCLUSÃO.....	42
2.5 REFERÊNCIAS.....	43
3 CAPÍTULO III	48
ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO DE MAMONA COM <i>Beauveria bassiana</i>, (BALS.) VUILLEMIN, VISANDO AO MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ	48
RESUMO	48

ABSTRACT	49
3.1 INTRODUÇÃO.....	50
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.2.1 Coleta da espécie vegetal e extração do óleo	51
3.2.2 Obtenção e produção dos isolados de <i>B. bassiana</i>	52
3.2.3 Execução do experimento	52
3.2.3.1 Avaliação da germinação.....	52
3.2.3.2 Crescimento vegetativo e esporulação.....	53
3.2.3.3 Índice biológico (IB).....	54
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
3.3.1 Germinação de <i>B. bassiana</i>	55
3.3.2 Crescimento vegetativo e esporulação	57
3.3.3 Índice biológico (IB)	60
3.4 CONCLUSÃO.....	62
3.5 REFERÊNCIAS.....	64
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70

RESUMO

A cafeicultura é uma atividade de extrema importância social e agrícola. Contudo, alguns problemas fitossanitários podem ocasionar prejuízos, diminuindo a produtividade e, conseqüentemente, a sua rentabilidade econômica. Dentre os insetos, a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), é considerada a principal praga da cultura. No presente estudo foi avaliado o potencial de uso do óleo de mamona e a associação com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, 1912, visando o controle de *H. hampei*. Avaliou-se a potencialidade do óleo de mamona sobre a mortalidade da broca-do-café utilizando três diferentes vias de aplicação: (1) ingestão, (2) contato e (3) ingestão + contato, além da estimativa da CL₅₀. Na associação entre o óleo de mamona e *B. bassiana* foram avaliados os parâmetros de germinação, crescimento vegetativo e esporulação, e determinado o índice biológico (IB). A via aplicação por ingestão + contato apresentou maior mortalidade nas concentrações de 0,5; 1,0 e 3,0% (v/v) diferindo das demais vias de aplicação. Por sua vez, nas concentrações 1,5; 2,0 e 2,5% (v/v) não houve diferença entre as vias de aplicação por contato e ingestão + contato, sendo que estas diferiram da via de aplicação por ingestão. A aplicação via ingestão + contato apresentou 92% de mortalidade na concentração 3,0% (v/v), superior as demais vias de aplicação. Esta via de aplicação também apresentou CL₅₀ de 1,31% (v/v). Os isolados CCA-UFES/Bb-4 e CCA-UFES/Bb-15 foram os que apresentaram os maiores valores de germinação. Somente o isolado CCA-UFES/Bb-4 apresentou crescimento vegetativo reduzido em função do aumento das concentrações do óleo de mamona. Esse isolado foi o que apresentou a maior esporulação em todas as concentrações. O óleo atua tanto por ingestão quanto por contato, sendo que a associação de ambos proporciona uma melhor eficiência de controle. Todos os isolados apresentam grande potencial de utilização associados com óleo de mamona.

Palavras-chave: Controle biológico, Inseticidas botânicos, Controle microbiano, Cafeicultura.

ABSTRACT

The coffee cultivation is a very important social and agricultural activity. However, some phytosanitary problems can cause losses, diminishing productivity and ultimately their profitability economic. Among the insects the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), is a major pest of the crop. This study evaluates the potential use of castor oil and its association with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, 1912, in order to controlling of *H. hampei*. The potential of castor oil through the mortality of the coffee berry borer using three different routes of application was evaluated: (1) ingestion, (2) contact and (3) combined (ingestion + contact), beyond the estimate of LC₅₀. In association between castor oil and *B. bassiana* the germination, vegetative growth and sporulation were evaluated, and the biological index (BI) determined. The route application combined (ingestion + contact) has increased mortality at concentrations of 0.5, 1.0 and 3.0% (v/v), differing from the other routes of application. However, on the concentrations 1.5, 2.0 and 2.5% (v/v) there was no significant differences between the routes of application contact and contact + ingestion, and these differ from the route of application by ingestion. The route of application by ingestion + contact presented 92% mortality on the concentration 3.0% (v/v), higher than the other routes of application. This route of application also presented an LC₅₀ of 1.31% (v/v). The CCA-UFES/Bb-4 and CCA-UFES/Bb-15 isolated showed the highest values of germination. Only CCA-UFES/Bb-4 isolate presented the vegetative growth reduced in function of increasing concentrations of castor oil. This isolate was one that showed greater sporulation at all concentrations. The oil acts both by ingestion and contact, and that the association of both provides a more efficient control. All isolates present great potential for use associated with castor oil.

Keywords: Biological control, Botanical insecticides, Microbial control, Coffee Culture.

1 CAPÍTULO I

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor e exportador de café, sendo responsável por 33,85% das exportações mundiais (OIC, 2011). As espécies cultivadas são *Coffea canephora* Pierre ex Froehner e *Coffea arabica* L. Os Estados de Minas Gerais e Espírito Santo são os principais produtores e na safra de 2010 foram responsáveis por 52 e 21% da produção brasileira, respectivamente. O Brasil também se destaca no cenário internacional como o segundo produtor de café conilon (*C. canephora*). O Estado do Espírito Santo é o maior produtor e na safra de 2010 produziu o equivalente a 7,355 milhões de sacas, que representou 72% da produção estadual de café e 65% da produção brasileira de café conilon (CONAB, 2011).

Essa produção pode ser afetada por diversos problemas fitossanitários, destacando-se a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), uma importante praga da cafeicultura (BUSTILLO PARDEY, 2006). A broca-do-café coloniza os frutos, em todos os estádios de desenvolvimento, afetando a produtividade e modificando a qualidade do café devido à entrada de microorganismos oportunistas (GUHARAY & MONTERREY, 1997; FORNAZIER et al., 2007). Os danos causados aos grãos podem provocar prejuízos econômicos que variam de 5 a 25% e, em casos graves de infestação, cerca de 50% da safra pode ser perdida (WEGBE et al., 2003; DURHAN, 2004). Estima-se que a broca-do-café provoque prejuízos da ordem de 500 milhões de dólares em todo o mundo (DURHAN, 2004; NEVES & HIROSE, 2005).

Apesar da preocupação constante e dos esforços para implantar medidas de controle menos prejudiciais ao ambiente e conseqüentemente ao homem, como é o caso dos inseticidas botânicos e do controle biológico, o controle químico vem sendo utilizado massivamente devido à popularização dos inseticidas sintéticos (CURE et al., 1998). Desta maneira o controle químico tem sido a alternativa de controle mais eficiente para prevenir o ataque desta praga. Porém, a utilização indiscriminada destes inseticidas leva a diminuição dos inimigos naturais e pode causar o surgimento de populações resistentes, além de problemas ambientais,

contaminação dos alimentos e agricultores (BRUN et al., 1989; 1994; NEVES & HIROSE, 2005; SOARES et al., 2005).

Na busca de solucionar os problemas citados, alguns métodos alternativos como, a utilização de fitoquímicos e o controle biológico vêm assumindo importante papel dentro de programas de manejo fitossanitário de pragas, num momento em que se discute a produção integrada rumo a uma agricultura sustentável (PARRA et al., 2002; BAKKALI et al., 2008). Para Vendramim (2002), o sistema mais adequado para o controle de pragas baseia-se no manejo integrado com a utilização de diferentes técnicas, em consonância com princípios ecológicos, econômicos e sociais com o objetivo de manter os insetos-praga abaixo do nível de dano econômico.

Desta forma, existem diversas técnicas possíveis de serem estudadas e implementadas no controle da broca-do-café, como é o caso da utilização das chamadas plantas inseticidas. Dentre estas, uma que tem demonstrado potencial para o controle de insetos-praga, é a mamoneira (*Ricinus communis* L.) que possui dentre os vários compostos, ricina e a ricinina, que são os principais responsáveis pela atividade inseticida (AUDI et al., 2005; CAZAL et al., 2009). Essa planta apresentou efeito inseticida sobre pragas como, formigas cortadeiras (HEBLING, 1996), *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) (ALMEIDA et al., 2005) e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (SANTIAGO et al., 2008).

Outra técnica é a utilização dos agentes naturais de controle, destacando-se o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, 1912 que foi observado em muitos países atacando a broca-do-café (GUHARAY & MONTERREY, 1997; DAMON, 2000; BUSTILLO PARDEY, 2005). No Estado do Espírito Santo foram constatadas ocorrências enzoóticas de *B. bassiana* nas regiões Norte e Sul (BENASSI, 1995; DALVI, 2008). Outra vantagem é que esse fungo apresenta a possibilidade de ser usado isoladamente ou integrado com outros métodos, como os inseticidas botânicos, inseticidas químicos seletivos, variedades de plantas resistentes a insetos, entre outros (MARQUES et al., 2004; DEPIERI et al., 2005; ROSSI-ZALAF et al., 2008).

A utilização de fungos entomopatogênicos, bem como a sua associação com inseticidas naturais de origem vegetal visando o controle de pragas, pode resultar em sinergismo entre os dois e/ou possibilitar a aplicação conjunta, com alta probabilidade de sucesso, mas necessitando de muitos estudos. Desta forma, este trabalho avaliou, no capítulo 1, o potencial da atividade inseticida do óleo de mamona sobre a broca-do-café, com o objetivo de se obter agentes químicos eficientes no manejo dessa praga, que provoquem poucos danos ao meio ambiente e que sejam mais seletivos a organismos não-alvo. No capítulo 2, buscando ainda alternativas mais sustentáveis de Manejo Fitossanitário para a broca-do-café, foi apresentado um estudo da associação do óleo de mamona com isolados de *B. bassiana*. Finalmente são apresentadas as conclusões finais e as perspectivas do trabalho.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 A broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae)

A broca-do-café, *H. hampei* tem origem na África Equatorial, sendo descrita por Ferrari em 1867 em grãos de café comercializado, porém apenas em 1901 foi citada em Gabón na África como praga de campo. Os relatos sobre sua distribuição se sucederam rapidamente, em 1902 no Congo, 1908 em Uganda e 1909 em Java. Na América foi introduzida por volta de 1913, no estado de São Paulo onde a partir de 1924 os prejuízos causados pela broca foram mais evidentes. Posteriormente, a broca-do-café disseminou-se por todas as regiões produtoras do país (BENASSI, 2007).

O adulto de *H. hampei* é um coleóptero de cor preta lúzida de tamanho reduzido. As fêmeas medem cerca de 1,7 mm e os machos cerca de 1,2 mm. Possui corpo cilíndrico e ligeiramente recurvado na região posterior. Os élitros são revestidos de cerdas e escamas filiformes. Possui mandíbulas e pernas de coloração castanha. As fêmeas possuem asas normais, possibilitando o vôo, já os machos possuem asas

rudimentares, e por essa razão eles não voam e não saem do fruto onde se originaram (SOUZA & REIS, 1997).

A razão sexual da broca é de um macho para 10 fêmeas. A fêmea acasalada perfura o fruto geralmente na região da coroa, construindo uma galeria que atinge o interior da semente, onde é realizada a postura. Os ovos são pequenos, brancos, elípticos e com brilho leitoso. A fêmea cuja longevidade é de 156 dias, põe de 31 a 119 ovos. A temperatura de 22 a 27 °C, quatro a 10 dias após a postura, inicia-se o período larval que é de 14 dias em média. A fase de pupa tem cerca de sete dias. A broca-do-café pode ter até sete gerações por ano, devido à sua alta longevidade e fecundidade atravessa facilmente o período de entressafra, causando danos na produção do ano seguinte (FORNAZIER et al., 2007).

Essa é uma das pragas mais importantes da cultura cafeeira, sendo encontrada em quase todos os países produtores (BUSTILLO PARDEY, 2006). O ataque dessa praga causa prejuízos quantitativos e qualitativos. Quantitativos devido à perda de peso, queda dos frutos novos brocados e apodrecimento de sementes. Em grandes infestações a perda de peso pode ser superior a 20%, ou seja, mais de 12 quilos por saca de 60 quilos. Os qualitativos são devido à depreciação tanto no tipo dos grãos quanto na qualidade da bebida e pelo aumento no número de defeitos como: grãos brocados, grãos quebrados, preto verde, preto ardido e contaminação por microorganismos (SOUZA & REIS, 1997).

1.2.2 Manejo fitossanitário da broca-da-café

O controle de pragas consiste na adoção de práticas que resultam na redução da infestação, mas não necessariamente na sua eliminação ou erradicação (AGUIAR-MENEZES, 2003). O mesmo autor argumenta que o nível de controle de pragas em uma cultura dependerá da espécie infestante, da capacidade competitiva da cultura, do período crítico de competição e das condições ambientais. Muitas vezes faz-se necessário a associação de dois ou mais métodos para atingir o nível de equilíbrio, ou seja, o equilíbrio natural, constituindo-se esse fato no Manejo Fitossanitário de Pragas. Esse é um caminho seguro para se alcançar uma agricultura sustentável, com intuito de garantir maior produtividade aos agricultores e menor agressividade

ao meio ambiente, aumentando a maximização do lucro e melhorando a qualidade de vida (VIANNA et al., 2008).

O manejo fitossanitário de pragas leva em consideração todos os fatores envolvidos na produção, ou seja, tem uma visão holística da situação na qual se encontra determinada cultura. Essa situação compreende desde o planejamento passando pelas metas a serem alcançadas; os objetivos sociais e econômicos; o agroecossistema envolvido; as características da cultura; as especificidades do inseto-praga, tais como, identificação, comportamento e seus inimigos naturais; os métodos de manejo levando em consideração o histórico da área; validação do manejo, ou seja, avaliar se os métodos empregados foram eficientes e se a tomada de decisão foi no momento adequado; e finalmente se o produto obtido é de qualidade e atende as exigências dos consumidores (ALVES et al., 2008a).

Dentre os métodos utilizados no manejo fitossanitário da broca do café destacam-se o cultural, o químico, o uso de inseticidas botânicos e o biológico (FORNAZIER et al., 2007).

O controle cultural deve sempre obedecer aos padrões técnicos recomendados para adubação, irrigação e tratamentos culturais, com objetivo de criar condições para a cultura competir com os insetos-praga (HAJI et al., 2002). Segundo Fornazier et al. (2007), o controle cultural através do “repasso”, isto é, da catação que se faz dos grãos de café que ficam no solo ou retidos na planta após a colheita, é um dos métodos mais eficientes de combate a broca-do-café. A retirada da fonte de alimento e dos insetos remanescentes da safra anterior favorece a redução da população da praga em lavouras comerciais. Lavouras abandonadas devem ser erradicadas para não servirem como foco de multiplicação e disseminação do inseto (FORNAZIER et al., 2007).

O controle químico baseia-se na utilização de agroquímicos sintéticos, produtos estes responsáveis pela revolução no controle dos insetos, que tem sido o meio mais eficiente e econômico de combatê-los, principalmente se o objetivo for maximização da produtividade das culturas em grandes áreas. Esse método é recomendado quando se observa de 3 a 5% de frutos brocados, no entanto, a maioria dos produtores não segue essa recomendação, fazendo aplicações sem

nenhum critério. Normalmente para o controle da broca-do-café são realizadas aplicações de Endosulfan, um inseticida de largo espectro (BRUN et al., 1989; 1994). Apesar da eficiência desses inseticidas, estes podem apresentar uma série de problemas como, intoxicação aguda e crônica de aplicadores, trabalhadores rurais e até mesmo dos consumidores; a mortalidade de peixes, aves e outros animais selvagens; eliminação de inimigos naturais e polinizadores; contaminação das águas subterrâneas extensas, ameaçando potencialmente a saúde humana e ambiental e o surgimento de populações de pragas resistentes (BRUN et al., 1989; 1994; LOVATTO et al., 2004; NEVES & HIROSE, 2005; SOARES et al., 2005).

Diante do exposto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através de Resolução-RDC Nº 28, de 9 de agosto de 2010, determinou a retirada programada do ingrediente ativo Endosulfan do mercado brasileiro no prazo de três anos contados a partir de 31 de julho de 2010 (ANVISA, 2010). Assim, a busca por novas alternativas de controle para essa praga, como a utilização de inseticidas botânicos e o controle biológico, se torna indispensável.

Os inseticidas botânicos são obtidos de metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Estes metabólitos podem ser utilizados diretamente como inseticidas ou ainda como modelos para desenvolvimento de novas classes de inseticidas. Os inseticidas botânicos ou plantas inseticidas são utilizados a pelo menos dois milênios na antiga China, Egito, Grécia e Índia. Estes eram amplamente utilizados no controle de insetos até a descoberta dos inseticidas organossintéticos, na primeira metade do século passado. As variações na eficiência do controle, devido às diferenças na concentração do ingrediente ativo entre plantas e, principalmente, o baixo efeito residual, que aponta para a necessidade de várias aplicações em curtos períodos, fez com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos (MACHADO et al., 2007).

A preocupação da sociedade com o impacto da agricultura no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com agrotóxicos vem alterando o cenário agrícola, resultando na presença de segmentos de mercado ávidos por produtos diferenciados, tanto aqueles produzidos sem uso de agrotóxicos, como por aqueles portadores de selos onde os mesmos foram utilizados adequadamente (BETTIOL & GHINI, 2001).

Visando a utilização de métodos de controle de pragas ecologicamente corretos, o uso de metabólitos secundários presentes em algumas plantas vem sendo retomado (HARBORNE, 1994; VASCONCELOS et al., 2006). Diversas substâncias oriundas do metabolismo secundário de plantas, como por exemplo, rotenóides, piretróides, alcalóides e terpenóides, que podem ser encontradas nas raízes, folhas e sementes podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, sem necessariamente causar a morte (LARCHER, 2000; ISMAN, 2006). Nesse último caso, pode haver retardamento no desenvolvimento do inseto, causando efeito insetistático (RODRIGUEZ & VENDRAMIM, 1998).

Na atualidade, as principais plantas das quais foram obtidas substâncias com atividade inseticida pertencem aos gêneros *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Fabaceae), produtoras de rotenóides; *Chrysanthemum* (Asteraceae), produtoras de piretrinas e *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina (ISMAN, 2006; DAYAN et al., 2009).

Sendo assim, o uso de óleos/extratos obtidos de plantas inseticidas pode ser uma alternativa para controle de insetos, pois estes são seletivos, biodegradáveis e têm poucos efeitos sobre organismos não-alvo (ISMAN, 2000). Os inseticidas botânicos podem ser aplicados no campo e em estufa, com os mesmo equipamentos de pulverização utilizados para os inseticidas sintéticos. Eles também podem ser uma ferramenta para o manejo da resistência, porque os mesmos podem ser altamente eficientes no controle de insetos-praga resistentes (AHN et al., 1997; ISMAN, 2006; DEQUECH et al., 2008). Entretanto, ainda são escassos os estudos sobre o potencial inseticida para a grande maioria das espécies vegetais, sendo de grande relevância o desenvolvimento de pesquisas nesta área, em busca de novas alternativas (VASCONCELOS et al., 2006).

Uma dessas novas alternativas, e possivelmente com potencial, é mamoneira, também conhecida no Brasil como “palma cristi”, “rícino” ou “carrapateira”, uma planta exótica pertencente à família Euphorbiaceae, de origem afro-asiática. Esta foi

introduzida em quase todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (RODRIGUES et al., 2002).

Atualmente, a indústria moderna utiliza o óleo extraído das sementes de mamona na fabricação de explosivos, vernizes, lubrificantes, tintas, plásticos, fertilizantes, couro, velas e produtos cosméticos, bem como laxantes, antifúngicos e antiparasitários (CONCEIÇÃO et al., 2005). Com aumento da demanda de energia, visto que, os combustíveis fósseis são limitados, têm-se desenvolvido pesquisas para obter alternativas renováveis. A mamona é uma oleaginosa com características para a produção de biodiesel, o que contribuirá para melhorar o cultivo desta planta (HANNA et al., 2005), podendo assim, facilitar a utilização no controle de insetos.

Os insetos necessitam de muitas enzimas para degradar os alimentos, permitindo posteriormente que sejam absorvidos pelo seu organismo, entre elas está a α -amilase, responsável por degradar as moléculas de amido. As sementes de mamona são ricas em inibidores protéicos que agem sobre α -amilase e outras enzimas que degradam polissacarídeos, fazendo destes inibidores nutricionais para os insetos (NASCIMENTO & MACHADO, 2006). Alguns destes peptídeos das sementes de *R. communis* já foram identificados, como o Rc-knottin que é resistente a hidrólises enzimáticas e atua como inibidor da α -amilase em *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) e *C. maculatus* (NASCIMENTO & MACHADO, 2004). Sobre os mesmo insetos também foram descobertas proteínas de reserva e alérgenos chamadas de albuminas 2S, sendo também inibidoras da atividade da enzima α -amilase (NASCIMENTO & MACHADO, 2006).

Diante do exposto, alguns estudos utilizando as propriedades inseticida mamoneira têm sido realizados. Um exemplo é a utilização de extrato acetônico do pó das sementes secas que apresentou excelente potencial no controle de três espécies de mosquitos vetores de doenças, *Anopheles stephensi* Liston, 1901 (Diptera: Culicidae), *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae), onde as concentrações de 32 e 64 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram efeito larvicida com 100% de mortalidade (MANDAL, 2010). A utilização de sementes de mamona trituradas a 5 e 10% (m/m) também demonstrou ser eficiente no controle de *C. maculatus*, durante 180 dias de armazenamento, em grãos de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) (ALMEIDA et al., 2005).

Além das sementes, outras partes da mamoneira também apresentam atividade inseticida. O extrato aquoso de frutos verdes de *R. communis* a 10% (m/v) afetou a duração e viabilidade larval de *S. frugiperda* demonstrando efeitos bioativos, provocando alongamento da duração da fase larval, inibição do crescimento e deterrência alimentar (SANTIAGO et al., 2008). Contudo, extratos aquosos de ramos e folhas de *R. communis* na concentração de 3% (m/v), não afetou a mortalidade de ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B (BALDIN et al., 2007). A utilização de pó da folha de mamona (0,3 g/10 g de feijão), também não afetou a mortalidade de *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Bruchidae) (MAZZONETTO & VENDRAMIM, 2003).

Outra estratégia de controle de insetos-praga dentro do Manejo Fitossanitário é o controle biológico. Este pode ser definido como a regulação natural dos números dos indivíduos de uma população de uma espécie-praga através da ação de uma ou outra população cujos indivíduos apresentam hábitos de predação, parasitismo, antagonismo ou patogenia. Estes são genericamente conhecidos como agentes de controle biológico e que agem de forma a impedir que a população da praga sobre a qual eles atuam se torne numericamente alta a ponto de causar prejuízo econômico, mantendo ambas as populações em equilíbrio (AGUIAR-MENEZES, 2003).

Com relação à broca-do-café os principais agentes de controle biológico são os parasitóides e os fungos entomopatogênicos (FORNAZIER et al., 2007). Dentre os parasitóides os mais importantes são os de origem africana, *Prorops nasuta* (Waterston, 1923) (Hymenoptera: Bethilidae), introduzido nas principais áreas produtoras do Continente Americano, Indonésia e Índia (INFANTE et al., 2003); *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, 1961 (Hymenoptera: Bethilidae), de grande eficiência na regulação desta praga (LACHAUD et al., 2002); *Heterospilus coffeicola* Schneiderknecht, 1924 (Hymenoptera: Braconidae) e *Phymastichus coffea* La salle, 1990 (Hymenoptera: Eulophidae), também introduzidos no Brasil e demais áreas produtoras das Américas (CASTILLO et al., 2004).

Já entre os fungos entomopatogênicos, o fungo *B. bassiana* tem demonstrado potencial de controle da broca-do-café, sendo de ocorrência natural em muitas regiões do país (BUSTILLO PARDEY, 2005). Os fungos são patógenos de largo espectro, capazes de colonizar diversas espécies de insetos e ácaros e de causar,

com frequência, epizootias em condições naturais. Esses patógenos também diferem de outros grupos por terem a capacidade de infectar todos os estágios de desenvolvimento dos hospedeiros. Os fungos penetram por diversas vias, predominantemente através do tegumento e possuem alta capacidade de disseminação horizontal (ALVES et al., 2008b).

Esse fungo pertence à classe Sordariomycetes, família Cordycipitaceae, cuja espécie foi nomeada em homenagem ao entomologista italiano Agostino Bassi, que em 1835 descobriu ser a causa da doença muscardina branca, nome dado devido ao aspecto de mofo branco do micélio constituído sobre os cadáveres dos hospedeiros. Esta doença causava terríveis prejuízos aos produtores de seda devido a epizootias nas criações de bicho-da-seda, *Bombyx mori* L., 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) (REHNER & BUCKLEY, 2005).

Comumente encontrado no solo esse fungo pode sobreviver como saprófito, sendo uma das espécies mais estudadas no controle de artrópodes, provavelmente em função da ampla distribuição geográfica e da variedade de seus hospedeiros (ALVES et al., 2008b). Apesar de *B. bassiana* ser encontrado em regiões de clima adverso, é consenso entre os pesquisadores que a patogenicidade e virulência está diretamente relacionado às condições climáticas, sendo o seu melhor desenvolvimento com umidade de aproximadamente 80%, temperatura entre 23 e 28 °C e tempo nublado (ALVES et al., 2008b).

Para iniciar o processo de infecção, os conídios devem entrar em contato com a cutícula ou serem ingeridos pelo inseto (ALVES et al., 2008b). A infecção via tegumento é a mais frequente. O fungo germina num período de 12 a 18 horas, dependendo de condições favoráveis de umidade, temperatura, pH, oxigênio e nutrição. Decorridas 72 horas da inoculação, o inseto apresenta-se totalmente colonizado. O tecido gorduroso é o mais atacado, seguidos pelo tecido intestinal e demais tecidos, resultando na morte do inseto em função da falta de nutrientes e do acúmulo de substâncias tóxicas. Sobre o cadáver ocorre a formação de grande quantidade de conidióforos e conídios característicos (ALVES, 1998).

Com tantos resultados positivos e com a necessidade de métodos alternativos de controle de pragas, a formulação e utilização de bioinseticidas baseados em

microorganismos entomopatogênicos vêm crescendo mundialmente como uma solução efetiva e ecológica, minimizando o impacto provocado pelos inseticidas convencionais. No Brasil, já existem alguns produtos a base de *B. bassiana* que são utilizados como agentes no controle de diversas pragas, principalmente em cultivos orgânicos (BERNARDI et al., 2006).

O estudo das propriedades e das técnicas de preparação de agroquímicos especificamente desenvolvidos para o controle de insetos tem uma importância muito grande, principalmente, quando se leva em conta o aumento na utilização desses insumos nos últimos anos. O mercado nacional movimentou, em 2009/2010, entorno de 7,12 bilhões de dólares com inseticidas. A indústria brasileira de defensivos passou à liderança mundial do setor em 2008, superando os Estados Unidos, constituindo uma grande fonte de divisas do país (ANVISA, 2011). Todavia, praticamente toda tecnologia existente pertence a companhias multinacionais. Deste modo, o desenvolvimento de tecnologias próprias é importante, principalmente, quando se considera a vitalidade do mercado mundial de agroquímicos.

Apesar de existirem muitos compostos com atividade inseticida, há a necessidade de desenvolver novos produtos, que sejam seletivos, ataquem sítios específicos em baixas dosagens e que, então, sejam degradados mais rapidamente, deixando o mínimo de resíduos no meio ambiente e nos alimentos. Assim, com base no desenvolvimento de novas técnicas para o manejo da broca-do-café, foi desenvolvido o projeto, aplicando o óleo de mamona isolado ou em associação com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Os objetivos deste trabalho foram:

- 1 – Avaliar o potencial inseticida do óleo de mamona visando o controle de *H. hampei*;
- 2 – Avaliar a compatibilidade do óleo de mamona com o fungo entomopatogênico *B. bassiana* visando o manejo fitossanitário da broca-do-café;

1.3 REFERÊNCIAS

- AGUIAR-MENEZES, E. DE L. **Controle Biológico de Pragas: Princípios e Estratégias de Aplicação em Ecossistemas Agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003.
- AHN, Y.J.; KWON, M.; PARK, H.M.; HAN, C.G. Potent insecticidal activity of *Ginkgo biloba*-derived trilactone terpenes against *Nilaparvata lygens*, p.90-105. In: HEDIN, P.A.; HOLLINGWORTH, R.M.; MASLER, E.P.; MIYAMOTO, J.; THOMPSON, D.G (Eds), **Phytochemicals for pest control agents**. ACS Symposium Series N° 658, American Chemical Society, Washington, DC. 1997.
- ALMEIDA, I.P. DE; DUARTE, M.E.M.; MATA, M.E.R.M.C.; FREIRE, R.M.M.; GUEDES, M.A. Armazenamento de feijão macassar tratado com mamona: estudo da prevenção do *Callosobruchus maculatus* e das alterações nutricionais do grão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, n.2, p.133-140. 2005.
- ALVES, F.R.; JESUS JUNIOR, W.C. DE; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; ZANUNCIO JUNIOR, J.S.; HOLTZ, A.M.; VIANNA, U.R. Manejo fitossanitário de doenças e pragas – novas perspectivas, p.383-416. In: POLANCZYK, R.A.; CECÍLIO, R.A; MATTA, F. DE P.; SOARES, T.C.B.; PEZZOPANE, J.E.M.; CAMPANHARO, W.A.; OLIVEIRA, M.C.C. DE. **Estudos avançados em produção vegetal**. Alegre: UFES, Centro de Ciências Agrárias, 2008a.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos, p.289-382. In: ALVES, S.B. (Ed.), **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina, p.69-110. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008b.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Resolução-RDC N° 28, de 9 de agosto de 2010**: Regulamento Técnico para o Ingrediente Ativo Endossulfam em decorrência da reavaliação toxicológica. Disponível em:

<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6100f50043e82e66a33dbbf12823b55a/DecisC3%A3o+final+da+Reavalia%C3%A7%C3%A3o+Toxicol%C3%B3gica+do+En+dossulfam+%E2%80%93+RDC+n%C2%BA+28+de+9+de+agosto+de+2010.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 20 dez. 2010.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Monitoramento do Mercado de Agrotóxicos:** Observatório da Indústria de Agrotóxicos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/07ee7e0041d81501a0d9f5255d42da10/estudo_monitoramento.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 14 jan. 2011.

AUDI, J.; BELSON, M.; PATEL, M.; SCHIER, J.; OSTERLOH, J. Ricin poisoning: A comprehensive review. **JAMA**, Chicago, v.294, n.18, p. 2342-2351. 2005.

BALDIN, E.L.L.; SOUZA, D.R.; SOUZA, E.S.; BENEDUZZI, R.A. Controle de mosca-branca com extratos vegetais, em tomateiro cultivado em casa-devegetação. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.25, n.4, p.602-606. 2007.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, Amsterdam, v.46, n.2, p.446–475. 2008.

BENASSI, V.L.R.M. Levantamento dos inimigos naturais da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae), no norte do Espírito Santo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.24, n.3, p.635-638. 1995.

BENASSI, V.L. Parasitóides da broca-do-café no Brasil: histórico e perspectivas, p. 193-198. In: WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2007, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2007.

BERNARDI, E.; PINTO, D.M.; NASCIMENTO, J.S.; RIBEIRO, P.B.; SILVA, C.I. Efeito dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre o desenvolvimento de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.127-129. 2006.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos, p.1-13. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável**. Recife: UFRPE, 2001.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SCUKLING, D.M. Endosulphan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, California, v.82, n.5, p.1311-1316. 1989.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V. Cross resistance between insecticides in coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), from New Caledonia. **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.84, n.2, p.175-178. 1994.

BUSTILLO PARDEY, A.E. El papel del control biológico en el manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, Santafé de Bogotá, v.29, n.110, p.55-68, 2005.

BUSTILLO PARDEY, A.E. Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae), en Colombia. **Revista Colombiana Entomologia**, Bogotá, v.32, n.2, p.101-116. 2006.

CASTILLO, A.; INFANTE, F.; LÓPEZ, G.; TRUJILLO, J. Laboratory parasitism by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) upon non-target bark beetles associated with coffee plantations. **Florida Entomologist**, Florida, v.87, n.3, p.274-277. 2004.

CAZAL, C. DE M.; BATALHÃO, J.R.; DOMINGUES, V. DE C.; BUENO, O.C.; RODRIGUES FILHO, E.; FORIM, M.R.; SILVA, M.F.G.F. DA; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B. High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis*. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1216, n.19, p.4290-4294. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra Brasileira de Café: safra 2010, primeira estimativa, janeiro/2011**. Brasília: CONAB, 2011.

CONCEIÇÃO, M.M.; CANDEIA, R.A.; DANTAS, H.J.; SOLEDADE, L.E.B.; FERNANDES, V.J.; SOUZA, A.G. Rheological behavior of castor oil biodiesel. **Energy & Fuels**, Washington, v.19, n.5, p.2185–2188. 2005.

CURE, J.R.; SANTOS, R.H.S.; MORAES, J.C.; VILELA, E.F.; GUTIERREZ, A.P. Fenologia e dinâmica populacional da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) relacionadas às fases de desenvolvimento do fruto. **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, n.3, p.325-335. 1998.

DALVI, L.P. **Coleta, caracterização molecular e seleção de isolados de *Beauveria bassiana* visando ao controle da broca-do-café no Espírito Santo**. Alegre, 2008. Dissertação de mestrado, PPGPV/UFES.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.90, n.6, p.453–465. 2000.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, San Diego, v.17, n.12, p.4022–4034. 2009.

DEPIERI, R.A.; MARTINEZ, S.S.; MENEZES JR., A.O. Compatibility of the Fungus *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with Extracts of Neem Seeds and Leaves and the Emulsible Oil. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.34, n.4, p.601-606. 2005.

DEQUECH, S.T.B.; SAUSEN, C.D.; LIMA, C.G.; EGEWARTH, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v.21, n.1, p.41-46. 2008.

DURHAN, S. Stopping the coffee berry borer from boring into profits. **Agricultural Research Magazine**, Washington, v.52, n.11, p.10-11. 2004.

FORNAZIER, M.J.; FANTON, C.J.; BENASSI, V.L.R.M.; MARTINS, D. DOS S. Pragas do café conilon, p.406-449. In: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A. DA; BRAGANÇA, S.M.; FERRÃO, M.A.G.; MUNER, L.H. DE. (Ed.). **Café Conilon**. Vitória: Incaper, 2007.

GUHARAY, J.; MONTERREY, J. Manejo ecológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en América Central. **Manejo Integrado de Plagas**, Managua, v.22, p.1-7. 1997.

HAJI, F.N.P.; PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial, p.477- 491. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊAFERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Piracicaba: Manole, 2002.

HANNA M.A.; ISOM, L.; CAMPBELL, J. Biodiesel: current perspectives and future. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v.64, n.10, p.854–857. 2005.

HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4. ed. London: Academic, 1994.

HEBLING, M.J.A. Toxic effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.86, n.3, p.253-256. 1996.

INFANTE, F.; MUMFORD, J.; GARCÍA-BALLINAS, A. Predation by native arthropods on the african parasitoid *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae) in coffee plantations of Mexico. **Florida Entomologist**, Florida, v.86, n.1, p.86-88. 2003.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Lincoln, v.19, n.8-10, p.603-608. 2000.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.51, p.45–66. 2006.

LACHAUD, G.P.; HARDY, I.C.W.; LACHAUD, J.P. Insect gladiators: competitive interactions between three species of bethylid wasps attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Biological Control**, San Diego, v.25, n.3, p.231-238. 2002.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000.

LOVATTO, P.B.; GOETZE, M.; THOMÉ, G.C.H. Efeito de extratos de plantas silvestres da família Solanaceae sobre o controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.971-978. 2004.

MACHADO, L.A.; SILVA, V.B.; OLIVEIRA, M.M. DE. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.103-106, 2007.

MANDAL, S. Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of *Ricinus communis* seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Hainan, v.3, n.8, p.605-609. 2010.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1675-1680. 2004.

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

NASCIMENTO, V.V.; MACHADO, O.L.T. Caracterização de um peptídeo inibidor de α -amilase isolado das sementes de *Ricinus communis*. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA: Energia e Sustentabilidade, 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004.

NASCIMENTO, V.V.; MACHADO, O.L.T. Albuminas 2s de mamona apresentam funções de reserva e defesa. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA: Cenário atual e perspectivas, 2006, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa e Petrobrás, 2006.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.34, n.1, p.77-82. 2005.

OIC (ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ). Exports by exporting countries to all destinations. Disponível em: < <http://www.ico.org/prices/m1.htm>>. Acesso em: 13 fev. 2011.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

REHNER, S.A.; BUCKLEY, E. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps teleomorphs*. **Mycologia**, Lawrence, v.97, n.1, p.84-98. 2005.

RODRIGUEZ, C.H.; VENDRAMIM, J. D. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Turrialba, v.48, p.11-18. 1998.

RODRIGUES, R.F.O.; OLIVEIRA, F.; FONSECA, A.M. As folhas de Palma Christi – *Ricinus communis* L. Euphorbiaceae Jussieu. Revisão de conhecimentos. **Lecta**, Bragança Paulista, v.20, n.2, p.183-194. 2002.

ROSSI-ZALAF, L.S.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M.R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p.279-302. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008.

SANTIAGO, G.P.; PÁDUA, L.E. DE M.; SILVA, P.R.R.; CARVALHO, E.M.S.; MAIA, C.B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.792-796. 2008.

SOARES, W.L.; FREITAS, E.A.V. DE; COUTINHO, J.A.G. Trabalho rural e saúde: intoxicações por agrotóxicos no município de Teresópolis - RJ. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v.43, n.4, p.685-701. 2005.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R. Broca-do-café: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle. **Boletim Técnico nº50**, Belo Horizonte: EPAMIG, 40p. 1997.

VASCONCELOS, G.J.N. DE; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; BARROS, R. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1353-1359. 2006.

VENDRAMIM, J.D. O controle biológico e a resistência de plantas, p. 511-528. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

VIANNA, U.R.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; FRANCO, C.R.; MELO, D.F.; VICENTINI, V.B. Indutores de Resistência: Uma ferramenta no manejo fitossanitário de pragas, p.213-224. In: POLANCZYK, R.A.; CECÍLIO, R.A.; MATTA, F. DE P.; SOARES, T.C.B.; PEZZOPANE, J.E.M.; CAMPANHARO, W.A.; OLIVEIRA, M.C.C. DE. **Estudos avançados em produção vegetal**. Alegre: UFES, Centro de Ciências Agrárias, 2008.

WEGBE, K.; CILAS, C.; DECASY, B.; ALAUZET, C.; DUFOUR, B. Estimation of production losses caused by the berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and calculation of an economic damage threshold in Togolese coffee plots. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.96, n.5, p.1473-1478. 2003.

2 CAPÍTULO II

POTENCIAL DO ÓLEO DE MAMONA NO MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI) (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE)

RESUMO

O uso de óleos extraídos de plantas é uma alternativa para controle de insetos, pois alguns são seletivos, biodegradáveis e têm poucos efeitos sobre organismos não-alvo. Assim, o presente trabalho avaliou diferentes vias de aplicação do óleo de mamona sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). Para isso foram testadas três vias de aplicação do óleo: (1) ingestão, (2) contato e (3) ingestão + contato, utilizando as concentrações 0,0 (controle); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v). A via de aplicação por ingestão + contato apresentou maior mortalidade nas concentrações de 0,5; 1,0 e 3,0% (v/v) diferindo das demais vias de aplicação. Por sua vez, nas concentrações 1,5; 2,0 e 2,5% (v/v) não houve diferença entre as vias de aplicação por contato e ingestão + contato, sendo que estes diferiram da via de aplicação por ingestão. Na concentração 3,0% (v/v) a via de aplicação por ingestão + contato apresentou mortalidade de 92%, superior as demais vias de aplicação. O óleo de mamona demonstrou ser eficiente no controle de *H. hampei*, sendo que a via de aplicação por ingestão + contato apresentou uma CL₅₀ de 1,31% (v/v).

Palavras-chave: Cafeicultura, Inseticidas botânicos, Via de aplicação.

ABSTRACT

The use of oils extracted from plants has been suggested as alternatives to control insects, because some are selective, biodegradable and have little effect on non-target organisms. Thus, this study evaluated the different routes of application the oil castor on *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). For that, three routes of application of the oil were tested: (1) ingestion, (2) contact and (3) combined (ingestion + contact), using the concentrations 0.0 (control); 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 and 3.0% (v/v). The route of application combined (ingestion + contact) had the highest mortality at concentrations of 0.5; 1.0 and 3.0% (v/v) differing from the other routes of application. However, on the concentrations 1.5; 2.0 and 2.5% (v/v) there were no significant differences between the routes of application by contact and ingestion + contact, and these differed from the route of application by ingestion. On the concentration of 3.0% (v/v) the route of application by ingestion + contact showed mortality of 92%, higher to others routes of application. Castor oil was efficient on controlling the *H. hampei*, being the route of application by ingestion + contact presented a LC₅₀ of 1.31% (v/v).

Keywords: Coffee Culture, Botanical insecticides, Route of application.

2.1 INTRODUÇÃO

Em 70 países do trópico úmido o café (*Coffea* spp.) é o produto agrícola mais importante (JARAMILLO et al., 2006). No entanto, um dos principais obstáculos à produção cafeeira no mundo têm sido os danos causados pela broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) (BUSTILLO PARDEY, 2006). Essa praga provoca danos quantitativos e qualitativos, causando graves prejuízos econômicos e afetando a economia de mais de 20 milhões de famílias rurais no mundo (VEGA et al., 2003).

Para o controle de *H. hampei* tem-se utilizado inseticidas químicos sintéticos, sendo o princípio ativo Endosulfan o mais empregado. Entretanto, este apresenta uma série de limitações, como a contaminação das águas subterrâneas extensas, ameaçando potencialmente a saúde humana e ambiental e o surgimento de populações de pragas resistentes (BRUN et al., 1989; 1994). Diante do exposto, Agência Nacional de Vigilância Sanitária determinou a retirada programada desse inseticida do mercado brasileiro no prazo de três anos contados a partir de 31 de julho de 2010 (ANVISA, 2010).

Visando solucionar tais problemas, uma alternativa que vem sendo retomada para o controle de pragas é o uso de metabólitos secundários presentes em algumas plantas, as quais são denominadas plantas inseticidas (HARBORNE, 1994; VASCONCELOS et al., 2006). De acordo com Shin-Foon & Yu-Tong (1993), produtos naturais extraídos de plantas são fontes de substâncias que podem ser utilizadas no controle de pragas, sendo compatíveis com programas de manejo fitossanitário de pragas como uma opção de controle capaz de minimizar os efeitos negativos do uso indiscriminado de inseticidas.

Entre as principais espécies de plantas inseticidas, as famílias Meliaceae, Annonaceae, Asteraceae, Cannellaceae, Labiateae e Rutaceae tem sido consideradas como as mais promissoras no controle de pragas (FERNANDES et al., 2005; AGUIAR-MENEZES, 2005). Além das famílias citas, outra que tem demonstrado grande potencial no controle de insetos-praga é a Euphorbiaceae, sendo utilizada no controle de inúmeras pragas (HEBLING, 1996; ALMEIDA et al., 2005; LIMA et al., 2006; NIÑO et al., 2007; SANTIAGO et al., 2008). Entretanto,

ainda são escassos os estudos sobre o potencial inseticida para a grande maioria das espécies vegetais, sendo de grande relevância o desenvolvimento de pesquisas nesta área, em busca de novas alternativas (VASCONCELOS et al., 2006).

O uso de óleos extraídos de plantas inseticidas pode ser uma alternativa para controle de insetos, pois estes são seletivos, biodegradáveis e têm poucos efeitos sobre organismos não-alvo (ISMAN, 2000). Os inseticidas botânicos podem ser aplicados no campo e em estufa, com os mesmo equipamentos de pulverização utilizados para os inseticidas sintéticos. Eles apresentam ainda a possibilidade de serem utilizados como uma ferramenta no manejo da resistência, porque os mesmos podem ser altamente eficientes no controle de insetos-praga resistentes (AHN et al., 1997; ISMAN, 2006; DEQUECH et al., 2008). Na literatura são encontrados diversos trabalhos que demonstram a eficiência de óleos vegetais em diversas espécies de pragas (PACHECO et al., 1995; ÇALMAŞUR et al., 2006; YI et al., 2007; TSOLAKIS & RAGUSA, 2008; RESTELLO et al., 2009).

Desta forma, o presente trabalho avaliou diferentes vias de aplicação do óleo de mamona sobre a broca-do-café.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no setor de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), em Alegre – ES. Estes foram conduzidos em câmara climatizada a 25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

2.2.1 Coleta da espécie vegetal e extração do óleo

As sementes da variedade IAC 80 da planta *Ricinus communis* L. (Mamoneira, pertencente à classe Magnoliopsida, família Euphorbiaceae) foram coletadas na cidade de Muqui (latitude: $-20^{\circ} 57' 06''$ e longitude: $-41^{\circ} 20' 45''$), Espírito Santo, em 2009. As sementes coletadas foram conduzidas ao setor de entomologia do

NUDEMAFI e foram identificadas, lavadas em água corrente e secas em estufa a 70 °C durante 24 horas. A extração do óleo foi feita utilizando o método de prensagem a frio. Para isso pesou-se 1 kg de semente de mamona e colocou-se em uma filtroprensa (sujeito a patente). Após a extração obteve-se 480 g de um óleo viscoso de cor palha-amarelo.

2.2.2 Criação e manutenção da broca-do-café

A criação e manutenção da broca-do-café foram realizadas em sala climatizadas a temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa (UR) de 70% e fotofase de 12 horas.

Foram coletados a campo, frutos de café brocados de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner, no município de Alegre-ES (latitude: -20° 45' 49" e longitude: -41° 31' 59"). Posteriormente, estes foram lavados com solução de hipoclorito de sódio a 5% (v/v) utilizando água como solvente, para evitar a proliferação de contaminantes. Em seguida foram enxaguados em água corrente e expostos em ambiente ventilado, sem o contato direto com luminosidade solar, por 24 horas. Os frutos brocados foram acondicionados em caixas plásticas (15x30x5 cm) com tampa. Para possibilitar as trocas gasosas, nas tampas foram feitos pelo menos 50 furos de ± 1 mm de diâmetro. Em cada caixa foram acondicionados no máximo 300 frutos, ocupando apenas uma lateral da caixa, ficando a outra lateral livre para que as brocas recém emergidas, ao deixarem os grãos, deslocassem para a extremidade livre para coleta. A referida coleta foi realizada com o auxílio de um succionador de insetos pequenos, adaptado a partir de uma bomba-de-vácuo.

Para continuidade da criação, as brocas obtidas foram colocadas na proporção de duas brocas por grão, em recipientes plásticos do tipo gerbox quadrado (10x10x4 cm) com tampa. Estes recipientes continham 200 grãos de café cereja descascado, da espécie *Coffea arabica* L., previamente lavado com hipoclorito de sódio a 5% (v/v) por 1 minuto e em seguida enxaguados em água corrente. Periodicamente, foi borrifado água destilada para a manutenção da umidade dos grãos. Após 40 dias iniciou-se a emergência dos adultos, iniciando todo o processo novamente.

2.2.3 Efeito do óleo de mamona sobre a broca-do-café

Nesse experimento, as unidades experimentais foram constituídas por um gerbox (6 cm de diâmetro), forrado com papel filtro e contendo 15 brocas recém emergidas. Cada tratamento constituiu de 10 repetições. Foram três vias de aplicação: (1) ingestão, (2) contato e (3) contato + ingestão, e sete concentrações: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v). As soluções do óleo de mamona foram diluídas em água e utilizou-se como espalhante adesivo o Tween[®] 80 a 0,05% (v/v).

Para a via de aplicação por ingestão, cada gerbox contendo 0,15 gramas de café moído foi pulverizado com auxílio de Torre de Potter à pressão de 15 libras/pol², aplicando-se um volume de 5,5 mL. Após a pulverização, inocularam-se os adultos da brocas. Para a via de aplicação por contato a pulverização foi feita sobre as brocas, utilizando o mesmo procedimento do teste anterior. Após a pulverização foi oferecido como alimento 0,15 gramas de café moído por gerbox. No caso, da via de aplicação por contato + ingestão a pulverização foi feita sobre a broca e o café moído. Esta pulverização foi realizada separadamente, ou seja, após a pulverização sobre as brocas, as mesmas foram transferidas para o gerbox com o café moído (0,15 gramas/gerbox) já pulverizado.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial 3x7 (via de aplicação x concentração do óleo de mamona). A avaliação da mortalidade foi realizada diariamente até o sétimo dia. Os dados de mortalidade total foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para verificar o efeito da concentração do óleo de mamona sobre a mortalidade da broca os dados foram submetidos à análise de regressão, ao nível de 5% significância.

2.2.4 Avaliação da mortalidade diária e total

Para análise da mortalidade diária e total foram utilizados os dados obtidos no ensaio 2.2.3. Este estudo foi realizado somente para via de aplicação por ingestão + contato, pois este representa melhor a mortalidade que ocorrerá em nível de campo.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, para verificar o efeito da concentração do óleo de mamona sobre mortalidade diária e total da broca, os dados foram submetidos à análise de regressão, ao nível de 5% de significância.

2.2.5 Estimativa da concentração letal (CL₅₀)

O teste de concentração letal foi realizado utilizando os dados obtidos no ensaio 2.2.3. Foram estimadas as CL₅₀ da via de aplicação por contato e ingestão + contato, não sendo estimado para ingestão, pois necessitaria de uma alta concentração para proporcionar uma elevada mortalidade, tornando a estimativa da CL₅₀ inviável para essa via de aplicação. Os dados de mortalidade foram analisados por meio de regressão de Probit, utilizando o programa POLO-PC, determinando a CL₅₀ com intervalo de confiança de 95% (LEORA SOFTWARE, 1987).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Efeito do óleo de mamona sobre a broca-do-café

Foi observado que o efeito do óleo de mamona sobre a mortalidade da broca-do-café apresentou interação significativa entre os fatores via de aplicação e concentração ($F_{12:189} = 3,11$; $P < 0,0005$). Desta forma, procedeu-se o desdobramento do fator via de aplicação dentro de cada nível do fator concentração e vice-versa (Tabela 1, Figura 1).

A via de aplicação associada (ingestão + contato) apresentou maior mortalidade nas concentrações de 0,5; 1,0 e 3,0% (v/v) diferindo das demais vias de aplicação (Tabela 1). Por sua vez, nas concentrações 1,5; 2,0 e 2,5% (v/v) não houve diferença entre as vias de aplicação por contato e ingestão + contato, diferindo apenas da via de aplicação por ingestão (Tabela 1). O óleo de mamona pode atuar sobre os insetos de diferentes formas, podendo penetrar no organismo por ingestão, através do aparelho digestivo, e por contato, atravessando o tegumento e através

das vias respiratórias. Entretanto, uma molécula com propriedade inseticida que chega a um organismo via ingestão, não apresenta efeitos imediatos, pois fica dependente dos processos de digestão para incorporação e ação nos sistemas vitais da praga. Por outro lado, é por contato que um produto tem ação mais rápida e por onde geralmente atua os inseticidas neurotóxicos (KATHRINA & ANTONIO, 2004; AGUIAR-MENEZES, 2005; ISMAN, 2006).

Tabela 1. Mortalidade média total (\pm EP) de *Hypothenemus hampei* submetidos a diferentes vias de aplicação do óleo de mamona em diferentes concentrações, a 25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Concentração (% v/v)	Via de aplicação		
	Ingestão (%)	Contato (%)	Ingestão + Contato (%)
0,0	8,00 \pm 2,59 A ^{1,2}	12,00 \pm 2,95 A	14,67 \pm 3,26 A
0,5	7,33 \pm 2,71 C	17,33 \pm 3,87 B	33,33 \pm 4,44 A
1,0	12,67 \pm 2,89 C	29,33 \pm 5,64 B	47,33 \pm 4,38 A
1,5	18,67 \pm 2,95 B	44,67 \pm 4,10 A	60,67 \pm 4,03 A
2,0	20,00 \pm 3,29 B	58,67 \pm 5,60 A	70,00 \pm 4,36 A
2,5	26,67 \pm 5,16 B	63,33 \pm 6,46 A	76,67 \pm 3,88 A
3,0	38,00 \pm 4,45 C	67,33 \pm 5,66 B	92,00 \pm 2,59 A

¹Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

²Dados transformados em arco seno da $\sqrt{(x/100)}$.

Para todas as concentrações, a via de aplicação por contato apresentou maior mortalidade da broca-do-café do que a via de aplicação por ingestão. No entanto, cabe ressaltar que independente da via de aplicação, houve efeito positivo do óleo de mamona sobre a mortalidade da referida praga (Tabela 1). Contudo, na concentração de 3,0% (v/v), que apresentou os maiores valores de mortalidade, observa-se que a associação (via de aplicação por ingestão + contato) apresentou mortalidade (92,00%) maior que a via de aplicação por contato (67,33%) e por ingestão (38,00%) (Tabela 1). Desta forma, pode-se inferir que o efeito da associação entre as vias de aplicação promove uma melhor eficiência no controle de *H. hampei*. Isto provavelmente ocorreu porque neste caso o ambiente estava totalmente saturado, ou seja, o produto estava sobre a própria broca, bem como no alimento, dificultando ao máximo que esta escapasse da ação inseticida do óleo. Já por ingestão a mesma poderia reduzir sua alimentação e viver de suas reservas, em função do período residual do óleo de mamona. Além disso, provavelmente na via de aplicação por ingestão + contato à broca-do-café estava sujeita a um maior

número de moléculas do princípio ativo agindo em relação às demais vias de aplicação, e a atuação dessas de forma conjunta poderiam afetar tanto o aparelho digestivo quanto o sistema nervoso e respiratório simultaneamente.

A mortalidade por ingestão de *H. hampei*, provavelmente, está associada à ação conjunta de efeitos antialimentares e inseticidas de proteínas contidas no óleo extraído da semente de mamona (BASHIR et al., 1998; DARBY et al., 2001). Esta atividade antialimentar é devida à ação de inibidores protéicos de α -amilase, que impedem a digestão e absorção do amido pelo inseto (OLSNES & KOZLOV, 2001). Já a atividade inseticida é devida à ação de proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs), que quando ingeridas provocam a morte das células dos aparelhos gastrintestinais (LORD et al., 1994; AUDI et al., 2005).

Entretanto, estudos avaliando a atuação por contato de *R. communis* L. não explicam como tal fato ocorre (LESSA et al., 2007; ANDRADE et al., 2008; DANTAS et al., 2008). Provavelmente, as moléculas com propriedades inseticidas contidas no óleo de mamona que atuam por esta via de aplicação, poderiam afetar o sistema nervoso central impedindo a transmissão dos impulsos nervosos, devido à inibição da enzima acetilcolinesterase, ou por distúrbios na acetilcolina, ou no GABA, e/ou nos canais de Na^+ e K^+ . Estas também poderiam afetar a respiração celular impedindo o transporte de elétrons e/ou inibindo a síntese de ATP. Em face disso, fica evidente que novas pesquisas devem ser desenvolvidas a fim de esclarecer melhor como realmente atuam estas substâncias.

Outros derivados de plantas inseticidas também afetaram a mortalidade da broca-do-café. O óleo nim a 1,0% (v/v) provocou 88,3% de mortalidade de fêmeas de *H. hampei*, quando pulverizado sobre as fêmeas (contato) e os frutos (ingestão). Contudo, a mortalidade isolada da pulverização sobre as fêmeas e os frutos foi menor que a associada, com valores de 41,7 e 58,0% de mortalidade, respectivamente (DEPIERI & MARTINEZ, 2010). Esses resultados corroboram com os encontrados nesse trabalho (Tabela 1).

Extratos acetônicos de folhas de *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) (25 mg/mL) também provocaram mortalidade de 100 e 65%, quando a broca-do-café foi exposta a superfície contaminada e aplicação tópica, respectivamente. No entanto, quando

testou à repelência o mesmo não apresentou índices para ser considerado como uma substância repelente (SANTOS et al., 2010). Outra planta que apresentou atividade inseticida sobre a broca-do-café foi a *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae), onde utilizando-se extrato etanólico da casca, folhas e sementes (2000 ppm), obtiveram-se mortalidades de 77,8; 62,2 e 64,4%, respectivamente (GUTIÉRREZ et al., 2007). Além das famílias citadas anteriormente, outras como a Asteraceae, Solanaceae, Euphorbiaceae e Rubiaceae, também demonstraram efeito inseticida sobre a broca-do-café (NIÑO et al., 2007).

A mortalidade por ingestão, contato e ingestão + contato da broca-do-café em função das concentrações de óleo de mamona ajustaram-se ao modelo linear ($P < 0,0001$, $R^2 = 92,04$; 96,66; 98,20%, respectivamente), ou seja, a mortalidade aumenta em função do aumento da concentração do óleo de mamona (Figura 1). Isto pode ser devido à redução na capacidade de destoxificação de *H. hampei* nas maiores concentrações, pois nestas há um maior número de moléculas do princípio ativo da planta por volume da solução. Assim, uma melhor ação pode ocorrer, pois há um contato mais efetivo do princípio ativo do óleo sobre a praga. Verificou-se também que o aumento da mortalidade em função das concentrações de óleo de mamona é mais acentuado quando as vias de aplicação são associadas (ingestão + contato), apresentando coeficiente angular de 24,38 (Figura 1). A ação de contato nos insetos, associada à ação por ingestão durante o consumo do alimento tratado, expõe ainda mais o inseto a ação das substâncias presentes no óleo o que, provavelmente, provocou a maior mortalidade. Essa tendência de aumento da mortalidade em função do aumento das concentrações também foi verificada quando se utilizou extrato acetônicos de folhas de *P. hispidum* (25 mg/mL) para o controle da broca-do-café (SANTOS et al., 2010).

2.3.2 Mortalidade diária e total de *H. hampei*

A mortalidade diária por ingestão + contato de *H. hampei* em todas as concentrações estudadas não se ajustaram a um modelo matemático, mantendo-se constante ao longo do tempo (Figura 2). Porém, na mortalidade total, apenas o controle não se ajustou a um modelo matemático. As demais concentrações do óleo

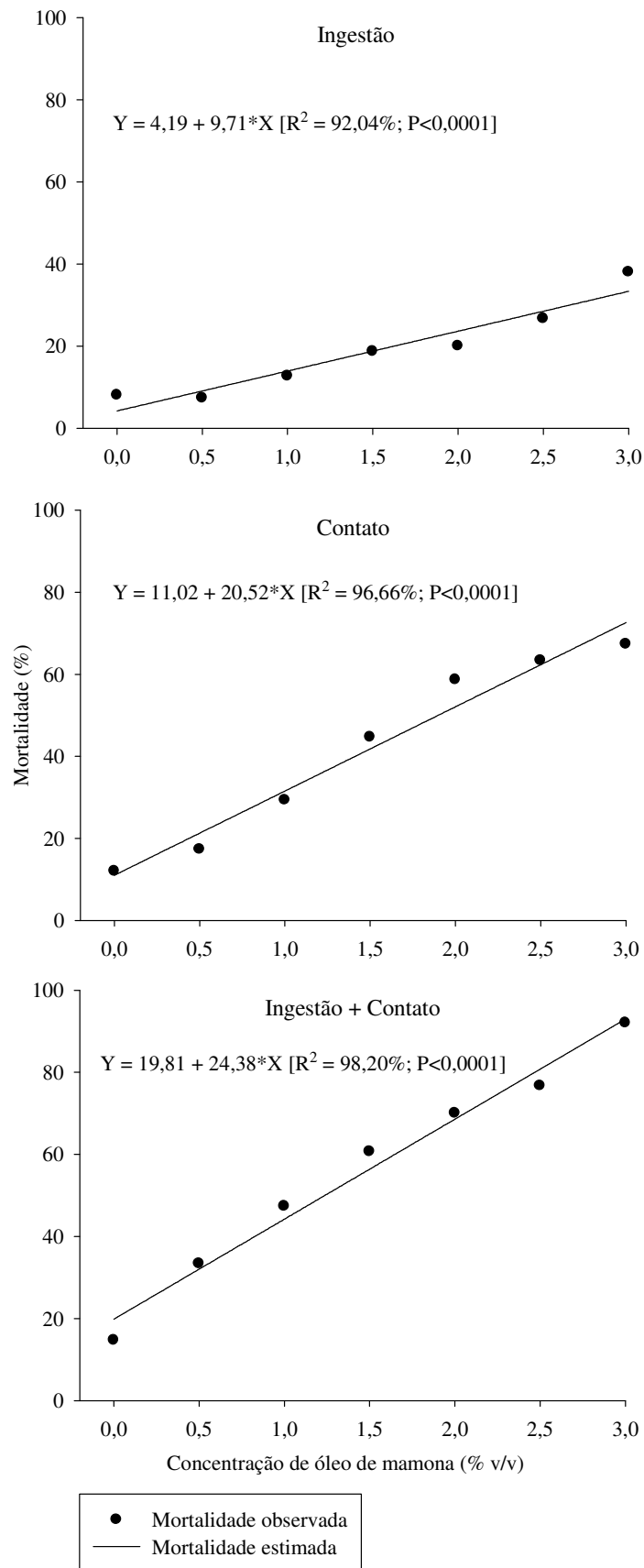


Figura 1. Mortalidade de *Hypothenemus hampei* submetidos a diferentes vias de aplicação do óleo de mamona em diferentes concentrações, a 25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

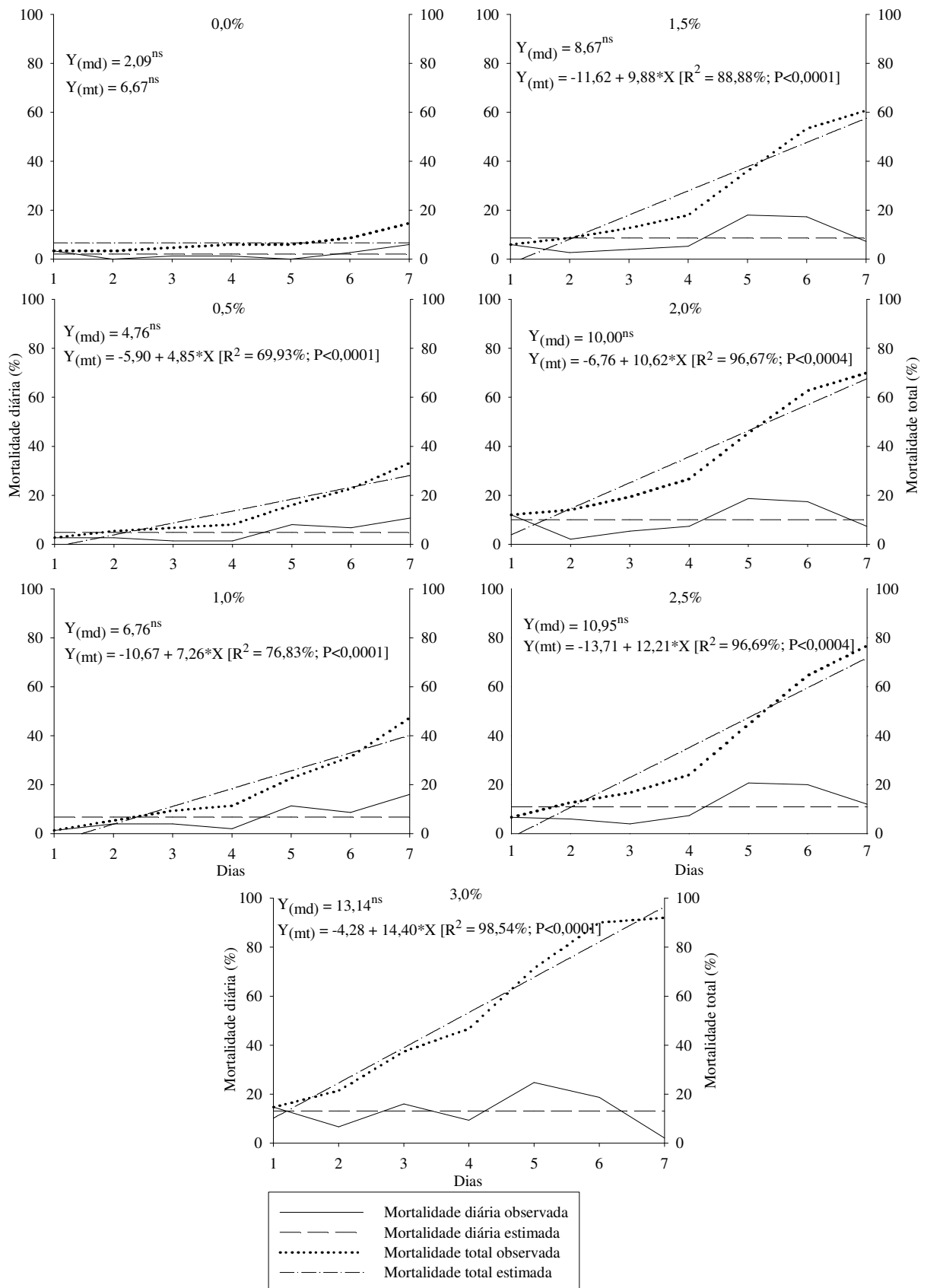


Figura 2. Mortalidade diária (md) e total (mt) por ingestão + contato de *Hypothenemus hampei* submetidos à aplicação de óleo de mamona em diferentes concentrações, a 25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Não significativo (ns).

de mamona seguiram modelo linear, com tendência de aumento ao logo do tempo, sendo mais acentuada na concentração de 3,0% (v/v), cujo coeficiente angular foi de 14,40 ($P < 0,0001$, $R^2 = 98,54\%$) (Figura 2). Essa maior exposição diária aos princípios ativos, provavelmente não permitiu que a broca-do-café modificasse ou detoxificasse estas moléculas com propriedades inseticidas a uma taxa suficiente para prevenir a sua ação, provocando maior mortalidade. Além disso, o grande número de proteínas inseticidas envolvidas tais como, a ricinina e a *Ricinus communis* aglutinina (RCA) (LORD et al., 1994), pode dificultar que estes processos ocorram.

A concentração de 3% (v/v) do óleo de mamona apresentou 70% de mortalidade total da broca-do-café, entre o 4º e o 5º dia após a aplicação, já para as concentrações de 2,0 e 2,5% (v/v) esse mesmo valor só foi apresentado entre o 6º e o 7º dia e as demais concentrações não atingiram esse valor (Figura 2). Cabe ainda ressaltar que a concentração de 3% (v/v) atingiu 90% de mortalidade total no 6º dia após a aplicação (Figura 2). Estes resultados evidenciam a melhor eficiência apresentada pelas maiores concentrações ao longo do tempo, visto que, estas demandam um menor número de dias para se obter o mesmo potencial de controle da broca-do-café.

2.3.3 Concentração letal (CL₅₀) do óleo de mamona

Na estimativa da concentração letal (CL₅₀), os dados adequaram-se ao modelo de Probit, mostrando um χ^2 não significativo e baixa heterogeneidade. Os intervalos de confiança determinaram diferenças significativas entre as vias de aplicação (Tabela 2). A CL₅₀ da via de aplicação associada (ingestão + contato) apresentou maior atividade inseticida do que a via de aplicação por contato, visto que, por esta via de aplicação necessita de uma menor concentração, 1,31% (v/v) de óleo de mamona, para matar 50% da população da broca-do-café (Tabela 2). Esta menor CL₅₀ apresentada pela via de aplicação associada significa um menor gasto de óleo de mamona para se obter a mesma resposta de mortalidade, ou seja, uma maior economicidade do produto. Estes resultados serviram como ponto de partida para o desenvolvimento de novas pesquisas, principalmente, a campo. No entanto, alguns

fatores deverão ser levados em consideração, tais como: variedade, idade da planta, características do solo e condições ambientais de cultivos, pois estes poderão influenciar na quantidade de metabólitos secundários produzidos pela planta (LEATEMIA & ISMAN, 2004).

Tabela 2- Respostas da concentração-mortalidade de *Hypothenemus hampei* a diferentes vias de aplicação do óleo de mamona.

Via de aplicação	n ^a	Coeficiente angular (\pm EP)	CL ₅₀ (%)	χ^2
Contato	750	2,47 \pm 0,32	2,05 (1,80-2,32)	1,56
Ingestão + contato	750	2,03 \pm 0,28	1,31 (1,08-1,54)	0,55

^aNúmero de brocas testadas

2.4 CONCLUSÃO

O óleo de mamona atua tanto por ingestão quanto por contato, sendo que a associação de ambos confere uma melhor eficiência no controle da broca-do-café. A mortalidade da broca-do-café aumenta em função da concentração e do tempo. A via de aplicação por ingestão + contato apresentou uma CL₅₀ para óleo de mamona de 1,31% (v/v). No 7º dia após a aplicação a concentração de 3% (v/v) apresentou 92% de mortalidade total.

2.5 REFERÊNCIAS

AGUIAR-MENEZES, E. DE L.A. **Inseticidas Botânicos**: Seus Princípios Ativos, Modo de Ação e Uso Agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005.

AHN, Y.J.; KWON, M.; PARK, H.M.; HAN, C.G. Potent insecticidal activity of *Ginkgo biloba*-derived trilactone terpenes against *Nilaparvata lygens*, p.90-105. In: HEDIN, P.A.; HOLLINGWORTH, R.M.; MASLER, E.P.; MIYAMOTO, J.; THOMPSON, D.G (Eds), **Phytochemicals for pest control agents**. ACS Symposium Series Nº 658, American Chemical Society, Washington, DC. 1997.

ALMEIDA, I.P. DE; DUARTE, M.E.M.; MATA, M.E.R.M.C.; FREIRE, R.M.M.; GUEDES, M.A. Armazenamento de feijão macassar tratado com mamona: estudo da prevenção do *Callosobruchus maculatus* e das alterações nutricionais do grão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, n.2, p.133-140. 2005.

ANDRADE, T.M.; SILVA-MANN, R.; SANTOS, H.O. DOS; PODEROSO, J.C.M.; DANTAS, P. DA C.; RIBEIRO, V.J.O.; RIBEIRO, G.T. Bioatividade de extratos aquosos de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) e pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em adultos de *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae). In: 5º CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA e Prefeitura Municipal de Varginha, 2008

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Resolução-RDC Nº 28, de 9 de agosto de 2010**: Regulamento Técnico para o Ingrediente Ativo Endossulfam em decorrência da reavaliação toxicológica. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6100f50043e82e66a33dbbf12823b55a/DecisC3%A3o+final+da+Reavalia%C3%A7%C3%A3o+Toxicol%C3%B3gica+do+Endossulfam+%E2%80%93+RDC+n%C2%BA+28+de+9+de+agosto+de+2010.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 20 dez. 2010.

AUDI, J.; BELSON, M.; PATEL, M.; SCHIER, J.; OSTERLOH, J. Ricin poisoning: A comprehensive review. **JAMA**, Chicago, v.294, n.18, p. 2342-2351. 2005.

BASHIR, M.E.H.; HUBATSCH, I.; LEINENBACH, H.P.; ZEPPEZAUER, M.; PANZANI, R.C.; HUSSEIN, I.H. Ricin c 1 and Ricin c 3, the allergenic 2S albumin storage proteins of *Ricinus communis*: complete primary structures and phylogenetic relationship. **International Archives of Allergy and Immunology**, Milwaukee, v.115, n.1, p.73-82. 1998.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SCUKLING, D.M. Endosulphan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, California, v.82, n.5, p.1311-1316. 1989.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V. Cross resistance between insecticides in coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), from New Caledonia. **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.84, n.2, p.175-178. 1994.

BUSTILLO PARDEY, A.E. Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae), en Colombia. **Revista Colombiana Entomologia**, Bogotá, v.32, n.2, p.101–116. 2006.

ÇALMAŞUR, Ö.; ASLAN, I.; ŞAHİN, F. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, Tucson, v.23, n.2, p.140–146. 2006.

DANTAS, P.C.; SANTOS, H.O. DOS; SILVA-MANN, R.; PODEROSO, J.C.M.; GONÇALVES, F.B.; PASSOS, E.M. DOS; RIBEIRO, G.T. Eficiência do extrato aquoso de folhas de mamona (*Ricinus communis* L.) sobre ovos e ninfas de quinto instar do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Pentatomidae). In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA: Energia e Ricinoquímica, 2008, Salvador. **Anais...** Salvador: Seagri e Embrapa, 2008.

DARBY, S.M.; MILLER, M.L.; ALLEN, R.O. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts. **Journal of Forensic Sciences**, Colorado Springs, v.46, n.5, p.1033-1042. 2001.

DEPIERI, R.A.; MARTINEZ, S.S. Redução da Sobrevivência da Broca-do-Café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), e do seu Ataque aos

Frutos de Café pela Pulverização com Nim em Laboratório. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.39, n.4, p.632-637. 2010.

DEQUECH, S.T.B.; SAUSEN, C.D.; LIMA, C.G.; EGEWARTH, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v.21, n.1, p.41-46. 2008.

FERNANDES, M.C.A.; RIBEIRO, R.L.D.; AGUIAR-MENEZES, E.L. Manejo agroecológico de fitoparasitas, p. 273-322. In: AQUINO, A.M. DE; ASSIS, R.L. (Ed.). **Agroecologia**: Princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

GUTIÉRREZ, O.A.V.; ARENAS, J.D.S.; BARRERA, M.G.; MARTÍNEZ, J.H.I. Actividad insecticida de extractos de *Bocconia frutescens* L. sobre *Hypothenemus hampei*. **Scientia et Technica**, Pereira, v.8, n.33, p.251-252. 2007.

HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4. ed. London: Academic, 1994.

HEBLING, M.J.A. Toxic effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.86, n.3, p.253-256. 1996.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Lincoln, v.19, n.8-10, p.603-608. 2000.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.51, p.45–66. 2006.

JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.96, n.3, p.223-233. 2006.

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.P.J. Control biológico de insectos mediante extractos botánicos, p. 137-160. In: CARBALLO, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004.

LEATEMIA, J.A.; ISMAN, M.B. Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against lepidopteran larvae. **Phytoparasitica**, Jerusalem, v.32, n.1, p.30–37. 2004.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC**: An user's guide to Probit Or Logit analysis. Berkely: LeOra Software, 1987.

LESSA, A.C.V.; SANTOS, H.O. DOS; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, A.F.; PODEROSO, J.C.M.; DANTAS, P.C.; CORREIA-OLIVEIRA, M.E.; RIBEIRO, G.T. Efeito toxicológico do extrato aquoso da folha de mamona (*Ricinus communis* L.) aplicado em *Trigona spinipes* L. (Hymenoptera: Apidae). In: **IV Congresso baiano de Apicultura**, 2007, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: Seagri, 2007.

LIMA, M.G.A. de; MAIA, I.C.C.; SOUSA, B.D. de; MORAIS, S.M. de; FREITAS, S.M. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.48, n.4, p.211-214. 2006.

LORD, M.J.; ROBERTS, L.M.; ROBERTUS, J.D. Ricin: structure, mode of action and some current applications. **The Faseb Journal**, Bethesda, v. 8, n.2, p. 201-208. 1994.

NIÑO, J.; BUSTAMANTE, A.M.; CORREA, Y.M.; MOSQUERA, O.M. Evaluación de extractos vegetales para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*, ferrari). **Scientia et Technica**, Pereira, v.8, n.33, p.383-385. 2007.

OLSNES, S.; KOZLOV, J. Ricin. **Toxicon**, Atlantic City v.39, n.11, p.1723-1728. 2001.

PACHECO, I.A.; CASTRO, F.M.P.P.M. DE; PAULA, D.C. DE; LOURENCÃO, A.L.; BOLONHEZI, S.; BARBIERI, M.K. Efficacy of Soybean and Castor Oils in the Control of *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) in Stored Chick-peas (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Stored Products Research**, Egham, v.31, n.3, p.221-228. 1995.

- RESTELLO, R.M.; MENEGATT, C.; MOSSI, A.J. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.53, n.2, p.304–307. 2009.
- SANTIAGO, G.P.; PÁDUA, L.E. DE M.; SILVA, P.R.R.; CARVALHO, E.M.S.; MAIA, C.B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.792-796. 2008.
- SANTOS, M.R.A. DOS; SILVA, A.G.; LIMA, R.A.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; POLLI, A.R.; FACUNDO, V.A. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.33, n.2, p.319-324. 2010.
- SHIN-FOON, C.; YU-TONG, Q. Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in South China. **Journal Applied Entomology**, Hamburg, v. 116, n.1-5, p. 479-486. 1993.
- TSOLAKIS, H.; RAGUSA, S. Effects of a mixture of vegetable and essential oils and fatty acid potassium salts on *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Zabrze, v.70, n.2, p.276–282. 2008.
- VASCONCELOS, G.J.N. DE; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; BARROS, R. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1353-1359. 2006.
- VEGA, F.E.; ROSENQUIST, E.; COLLINS, W. Global Project needed to tackle coffee crisis. **Nature**, Waltham, v. 425, n.6956, p.343. 2003.
- YI, C.; KWON, M.; HIEU, T.T.; JANG, Y.; AHN, Y. Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Seoul, v.10, n.2, p.157-163. 2007.

3 CAPÍTULO III

ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO DE MAMONA COM *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN, VISANDO AO MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ

RESUMO

Os fungos entomopatogênicos apresentam a possibilidade de serem usados isoladamente ou integrados com outros métodos. Assim, este trabalho estudou associação do óleo de mamona com isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, 1912, visando ao controle da broca-do-café. Foram utilizados os isolados de *B. bassiana* CCA-UFES/Bb-4, CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15, CCA-UFES/Bb-18 e ESALQ/447. Para avaliar a germinação, 0,1 mL da mistura contendo o óleo de mamona nas concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v) e os conídios (1×10^6 conídios/mL) foi plaqueado em meio de cultura BDA. Para estudar o crescimento vegetativo e esporulação, as concentrações de óleo de mamona foram adicionadas em 100 mL de meio de cultura BDA. O fungo foi inoculado em três pontos equidistantes por placa. Após dez dias foi determinado o diâmetro médio das colônias e quantificado os conídios. Para a classificação da compatibilidade foi utilizado o modelo IB (Índice Biológico). Para a germinação não houve interação entre os fatores e os isolados CCA-UFES/Bb-4 e CCA-UFES/Bb-15 foram os que apresentaram os maiores valores. Apenas o isolados CCA-UFES/Bb-4 teve o crescimento vegetativo reduzido em função do aumento da concentrações óleo de mamona. Este isolado foi um dos que apresentaram maior esporulação em todas as concentrações. Todos os isolados apresentam grande potencial de utilização associados com óleo de mamona para o manejo da broca-do-café.

Palavras-chave: Controle biológico, Entomopatógenos, Inseticidas botânicos.

ABSTRACT

The entomopathogenic fungi present the possibility to be used alone or integrated with other methods. Thus, this study investigated the association of castor oil with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, 1912, aimed the controlling of the coffee berry borer. We used isolates of *B. bassiana* CCA-UFES/Bb-4, CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15, CCA-UFES/Bb-18 and ESALQ/447. To evaluate the germination 0.1 ml of mixture containing castor oil at concentrations 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 and 3.0% (v/v), conidia (1×10^6 conidia/mL) was plated on PDA culture medium. To study the vegetative growth and sporulation, the concentrations of castor oil were added in 100 mL of PDA culture medium. The fungus was inoculated at three equidistant points on the board. After ten days was determined the average diameter of the colonies and quantified conidia. To classify the compatibility model IB (biological index) was used. For germination there was no interaction between the factors and isolates CCA-UFES/Bb-4 and CCA-UFES/Bb-15 showed the highest values. Only CCA-UFES/Bb-4 isolate presented the vegetative growth reduced in function of increasing concentrations of castor oil. This isolated was one that showed higher sporulation at all concentrations. All isolates present great potential for use associated with castor oil for the management of coffee berry borer.

Keywords: Biological control, Entomopathogens, Botanical insecticides.

3.1 INTRODUÇÃO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) é a principal praga do cafeeiro em todo o mundo (BUSTILLO PARDEY, 2006). Estima-se que mundialmente a broca-do-café provoque prejuízos da ordem de 500 milhões de dólares (NEVES & HIROSE, 2005). O controle dessa praga baseia-se no uso de inseticidas, principalmente o Endosulfan, mas a sua utilização intensiva e repetida tem causado o surgimento de populações resistentes, além de problemas ambientais, contaminação dos alimentos e agricultores (BRUN et al., 1989; 1994; NEVES & HIROSE, 2005; SOARES et al., 2005). Devido a estes problemas, Agência Nacional de Vigilância Sanitária determinou a retirada programada desse inseticida do mercado brasileiro até 2014 (ANVISA, 2010).

Como alternativas aos compostos químicos sintéticos, nos últimos anos tem-se aumentado a busca por produtos naturais que sejam eficientes no controle de pragas. Os inseticidas naturais de origem vegetal podem vir a constituir-se em importantes agentes de controle, por serem de fácil obtenção e utilização, terem baixo custo e minimizarem os problemas apresentados pelos inseticidas químicos sintéticos (CARNEIRO et al., 2007).

Dentre as inúmeras plantas inseticidas, uma delas muito promissora é mamoneira (*Ricinus communis* L.) pertencente à classe Magnoliopsida, família Euphorbiaceae, que possui dentre os vários compostos, ricina e a ricinina que são as principais responsáveis pela atividade inseticida (LORD et al., 1994; AUDI et al., 2005; CAZAL et al., 2009). Essa planta apresentou efeito inseticida sobre pragas como, formigas cortadeiras (HEBLING, 1996), *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) (ALMEIDA et al., 2005) e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (SANTIAGO et al., 2008).

Outro recurso para o manejo alternativo de pragas é o controle biológico, com a utilização de fungos entomopatogênicos. Dentre esses, destaca-se *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, 1912 que é utilizado como agente no controle de diversas pragas, principalmente em cultivos orgânicos (BERNARDI et al., 2006). Esse fungo é comumente encontrado no solo, onde pode sobreviver como saprófito, possui ampla distribuição geográfica e variedade de hospedeiros (ALVES, 1998a). Além disso,

possuem os conídios e os esporos com alta capacidade de dispersão horizontal, sendo transportados por vários agentes a grandes distâncias, compondo focos de disseminação (CASTRILLO et al., 2005). Os fungos entomopatogênicos apresentam a possibilidade de serem usados isoladamente ou integrados com outros métodos, como os inseticidas naturais de origem vegetal, inseticidas químicos seletivos, variedades de plantas resistentes a insetos, entre outros (MARQUES et al., 2004; DEPIERI et al., 2005; ROSSI-ZALAF et al., 2008).

A associação destes fungos com os inseticidas naturais de origem vegetal para o controle de pragas é uma possibilidade promissora, podendo resultar em sinergismo entre os dois e/ou possibilitar a aplicação conjunta, com alta probabilidade de sucesso, porém, necessitando ainda de muitos estudos. Assim, o presente trabalho teve o objetivo de estudar a associação entre isolados de *B. bassiana* e o óleo de mamona, visando ao manejo da broca-do-café.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Coleta da espécie vegetal e extração do óleo

As sementes da variedade IAC 80 da planta *R. communis* foram coletadas na cidade de Muqui (latitude: -20° 57' 06" e longitude: -41° 20' 45"), Espírito Santo, em 2009. As sementes coletadas foram conduzidas ao setor de entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) e foram identificadas, lavadas em água corrente e secas em estufa a 70 °C durante 24 horas. A extração do óleo foi feita utilizando o método de prensagem a frio. Para isso pesou-se 1 kg de semente de mamona e colocou-se em uma filtro prensa (sujeito a patente). Após a extração obteve-se 480 g de um óleo viscoso de cor palha-amarelo.

3.2.2 Obtenção e produção dos isolados de *B. bassiana*

Foram utilizados os isolados CCA-UFES/Bb-4, CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15, CCA-UFES/Bb-18 provenientes da coleção do Banco de Entomopatógenos do CCA-UFES. A seleção dos fungos foi baseada em Dalvi (2008) que verificou o potencial destes isolados para *H. hampei*, além do isolado ESALQ/447 oriundo do Banco de Entomopatógenos da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, por ser considerado um isolado padrão (HABIB et al., 1998). Estes isolados foram revigorados previamente em adultos da broca-do-café. Por ocasião dos bioensaios, os fungos foram repicados em meio de cultura do tipo BDA (batata-dextrose-ágar) mais levedura e, após aproximadamente dez dias foram multiplicados em placas de Petri contendo BDA mais levedura. Os mesmos foram incubados em câmara climatizadas a temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, onde permaneceram por dez dias.

3.2.3 Execução do experimento

Os experimentos foram desenvolvidos no setor de Entomologia do NUDEMAFI (CCA-UFES), em Alegre – ES. Estes foram conduzidos em câmara climatizada a 25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

3.2.3.1 Avaliação da germinação

A metodologia adotada nesta etapa foi adaptada de SILVA & NEVES (2005) preparando-se soluções de óleo de mamona nas concentrações: 0,0 (controle); 0,555; 1,111; 1,667; 2,222; 2,778 e 3,333% (v/v). Nestas concentrações foi adicionado o espalhante adesivo Tween 80 a 0,05% (v/v), sendo o solvente utilizado a água. Dessa solução inicial foram retirados 9 mL que foram adicionados a 1 mL de uma suspensão com 1×10^7 conídios/mL dos isolados de *B. bassiana*, mantidos em repouso por 1 hora. Após esse período, obteve-se uma solução contendo o óleo de mamona nas concentrações de 0,0 (controle); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v) e os conídios a 1×10^6 conídios/mL. Após este procedimento retirou-se 0,1 mL que foi plaqueado com alça de Drigalski em meio de cultura BDA.

Após a inoculação as placas foram incubadas durante 28 horas em câmara climatizadas a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Posteriormente a incubação, foi realizada a contagem dos conídios dividindo-se as placas em quatro quadrantes e contando no mínimo 100 conídios por quadrante entre aqueles germinados e não germinados, utilizando-se microscópio óptico com aumento de 400 vezes. Foram utilizadas quatro placas de Petri (9 cm de diâmetro) por tratamento. Esse experimento foi montado no esquema fatorial 5x7 (isolado de *B. bassiana* x concentração do óleo de mamona), sendo que os dados obtidos foram transformados por arcosseno da $\sqrt{(x/100)}$ e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Para verificar o efeito da concentração do óleo de mamona sobre a germinação de *B. bassiana*, os dados foram submetidos à análise de regressão ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.3.2 Crescimento vegetativo e esporulação

A metodologia adotada nesta etapa foi adaptada de SILVA & NEVES (2005) utilizando-se as seguintes concentrações de óleo de mamona: 0,0 (controle); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v). Estas foram adicionadas em 100 mL de meio de cultura BDA fundido a temperatura de aproximadamente 40 °C, ainda não solidificado, e depois vertido em placas de Petri (9 cm de diâmetro). Depois de solidificado o meio, o fungo foi inoculado em três pontos equidistantes por placa, com auxílio de uma alça de platina. As placas foram incubadas em câmara climatizadas nas mesmas condições do estudo anterior. Após dez dias foram selecionadas, aleatoriamente, seis colônias por tratamento; estas foram medidas com uma régua em dois sentidos transversais, determinando-se o diâmetro médio das colônias. Em seguida, as colônias foram recortadas com um bisturi para a quantificação dos conídios. Cada colônia foi colocada em um tubo de falcon, adicionando-se 10 ml de ADE + Tween 80 a 0,05% (v/v) e agitando-se por cerca de dois minutos em Vortex[®], até a retirada dos conídios da superfície do meio recortado. Foram feitas as diluições necessárias para quantificar os conídios com auxílio de uma câmara de Neubauer[®].

Esse experimento foi montado no esquema fatorial 5x7 (isolado de *B. bassiana* x concentração do óleo de mamona), utilizado-se quatro placas por tratamento. Os dados obtidos foram transformados por $\sqrt{(x + 0,5)}$ e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Para verificar o efeito da concentração do óleo de mamona sobre o crescimento vegetativo e esporulação de *B. bassiana*, os dados foram submetidos à análise de regressão ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.3.3 Índice biológico (IB)

Para a classificação da compatibilidade do produto com os entomopatógenos foi utilizado o modelo IB (Índice Biológico), desenvolvido por Alves et al. (2007), para caracterizar a compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos inseticidas *in vitro*, em meio de cultura sólido. Assim, foram calculados os valores percentuais médios de esporulação e crescimento vegetativo das colônias dos fungos com relação à testemunha, sendo aplicada, para cada concentração do óleo de mamona, a seguinte fórmula:

$$IB = [47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GERM)] / 100$$
, onde:

IB = Índice biológico; CV= Porcentagem de crescimento vegetativo em relação à testemunha; ESP = Porcentagem de esporulação das colônias em relação à testemunha; GER = Porcentagem de germinação dos conídios.

Os valores de IB para a classificação dos produtos são: tóxico 0-41, moderadamente tóxico 42-66 e compatível > 66.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Germinação de *B. bassiana*

Para o parâmetro germinação não houve interação entre os fatores (isolado de *B. bassiana* x concentração do óleo de mamona), dessa forma os mesmos foram analisados isoladamente ($F_{24:70} = 1,42$; $P = 0,12$) (Tabela 1). Todos os isolados de *B. bassiana* apresentaram germinação nas concentrações de óleo de mamona estudadas, entretanto, estes diferiram entre si. Os isolados CCA-UFES/Bb-4 e CCA-UFES/Bb-15 apresentaram os maiores valores de germinação. O isolado ESALQ-447 apresentou o menor valor de germinação em relação aos demais isolados, no entanto, esse valor ainda foi elevado (82,43%) (Tabela 1). Essa diferença de germinação entre os isolados provavelmente está relacionada à grande variabilidade genética existente entre os mesmos, sendo esta considerada uma das principais vantagens dos fungos entomopatogênicos. Mesmo havendo diferença de germinação entre os isolados esses resultados são importantes, pois de acordo com Silva & Neves (2005) a germinação é principal fator de compatibilidade a ser considerado em todos os testes que envolvem produtos químicos, fitossanitárias ou não.

A germinação de *B. bassiana* em função das concentrações de óleo de mamona ajustou-se ao modelo linear ($R^2 = 83,81\%$), verificando-se redução desse parâmetro em função do aumento da concentração (Figura 1). Apesar de haver redução na germinação em função do aumento da concentração do óleo de mamona, observa-se que o valor inicial é alto (96,34%) e que a redução é pequena em função da concentração (Figura 1). Essa redução da germinação apesar de pequena, provavelmente, foi em função da maior quantidade do princípio ativo por volume da solução, o que proporcionou uma maior exposição dos conídios a ação das moléculas com propriedade inseticidas presentes no óleo de mamona.

Na literatura não há relatos do efeito do óleo de mamona na germinação de *B. bassiana*, todavia, outros óleos vegetais como o óleo de nim e o Nortox[®] CE causaram redução desse parâmetro (HIROSE et al., 2001; DEPIERI et al., 2005; SILVA et al., 2006; ISLAM et al., 2010). Alguns autores obtiveram resultados opostos para o óleo de nim, não observando redução da germinação de *B. bassiana* quando na presença desse óleo (MARQUES et al., 2004; MOHAN et al., 2007). Outros óleos vegetais, tais como, Agnique[®] CSO-40 B, Agnique[®] ESO 81-B (ambos, óleos vegetais etoxilados), Natur Óleo[®] EW e Veget Oil[®] EC não afetaram a germinação de *B. bassiana* (SILVA et al., 2006).

Tabela 1. Média (\pm EP) da germinação, do crescimento vegetativo e da esporulação de *Beauveria bassiana* em meios de cultura com diferentes concentrações de óleo de mamona. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Concentração (% v/v)	Isolados de <i>B. bassiana</i>				
	CCA-UFES/ Bb-4	CCA-UFES/ Bb-11	CCA-UFES/ Bb-15	CCA-UFES/ Bb-18	ESALQ-447
Germinação (%) ^{1,2}					
0,0	99,67 \pm 0,24	99,00 \pm 0,41	99,00 \pm 0,41	98,33 \pm 0,62	98,00 \pm 0,41
0,5	98,33 \pm 0,62	90,00 \pm 2,04	98,33 \pm 0,24	93,67 \pm 1,03	85,33 \pm 2,49
1,0	98,33 \pm 0,85	91,67 \pm 4,13	98,67 \pm 0,62	93,67 \pm 1,93	88,00 \pm 0,82
1,5	96,33 \pm 0,62	86,33 \pm 1,25	98,00 \pm 0,71	92,33 \pm 1,25	80,67 \pm 2,49
2,0	95,33 \pm 0,62	87,67 \pm 1,03	98,33 \pm 0,62	92,00 \pm 1,63	74,67 \pm 1,70
2,5	95,67 \pm 1,03	90,33 \pm 1,70	98,00 \pm 0,41	93,00 \pm 1,08	74,33 \pm 3,47
3,0	97,00 \pm 0,82	87,67 \pm 1,93	98,67 \pm 0,62	93,33 \pm 0,62	76,00 \pm 3,24
Média	97,24 \pm 0,46 A	90,38 \pm 1,28 C	98,43 \pm 0,25 A	93,76 \pm 0,71 B	82,43 \pm 2,08 D
Crescimento Vegetativo (cm) ^{1,3}					
0,0	2,19 \pm 0,10 B	2,62 \pm 0,16 A	1,97 \pm 0,02 B	2,24 \pm 0,07 B	2,37 \pm 0,06 A
0,5	2,47 \pm 0,09 B	2,56 \pm 0,11 B	2,26 \pm 0,03 C	2,80 \pm 0,03 A	2,08 \pm 0,05 C
1,0	1,95 \pm 0,13 B	2,70 \pm 0,10 A	2,13 \pm 0,09 B	2,69 \pm 0,10 A	2,00 \pm 0,03 B
1,5	2,35 \pm 0,03 B	2,91 \pm 0,05 A	2,08 \pm 0,12 C	2,48 \pm 0,08 B	2,53 \pm 0,14 B
2,0	1,94 \pm 0,07 D	2,82 \pm 0,09 A	2,48 \pm 0,06 B	2,48 \pm 0,13 B	2,20 \pm 0,12 C
2,5	1,90 \pm 0,08 B	2,77 \pm 0,18 A	2,05 \pm 0,07 B	2,92 \pm 0,08 A	2,22 \pm 0,13 B
3,0	2,05 \pm 0,05 B	2,53 \pm 0,16 A	2,03 \pm 0,06 B	2,45 \pm 0,05 A	2,13 \pm 0,04 B
Esporulação ($\times 10^7$ conídios/mL) ^{1,3}					
0,0	15,60 \pm 1,96 A	9,90 \pm 1,13 A	13,38 \pm 2,00 A	14,60 \pm 2,87 A	12,50 \pm 0,48 A
0,5	14,00 \pm 2,02 A	4,27 \pm 1,59 B	6,39 \pm 0,72 B	4,40 \pm 0,86 B	3,13 \pm 0,42 B
1,0	19,00 \pm 3,20 A	4,85 \pm 1,18 C	2,88 \pm 0,72 C	9,20 \pm 1,49 B	3,08 \pm 1,20 C
1,5	15,41 \pm 1,47 A	7,56 \pm 0,91 B	0,40 \pm 0,07 C	5,78 \pm 1,47 B	1,38 \pm 0,26 C
2,0	6,01 \pm 1,15 A	2,88 \pm 0,72 B	0,44 \pm 0,9 B	4,22 \pm 0,80 A	1,56 \pm 0,41 B
2,5	9,94 \pm 1,70 A	3,95 \pm 0,30 B	0,33 \pm 0,03 D	2,25 \pm 0,28 C	0,71 \pm 0,26 D
3,0	3,27 \pm 0,74 A	2,90 \pm 0,23 A	0,25 \pm 0,05 B	2,16 \pm 0,20 A	0,98 \pm 0,12 B

¹Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

²Dados transformados em arcoseno da $\sqrt{(x/100)}$.

³Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$.

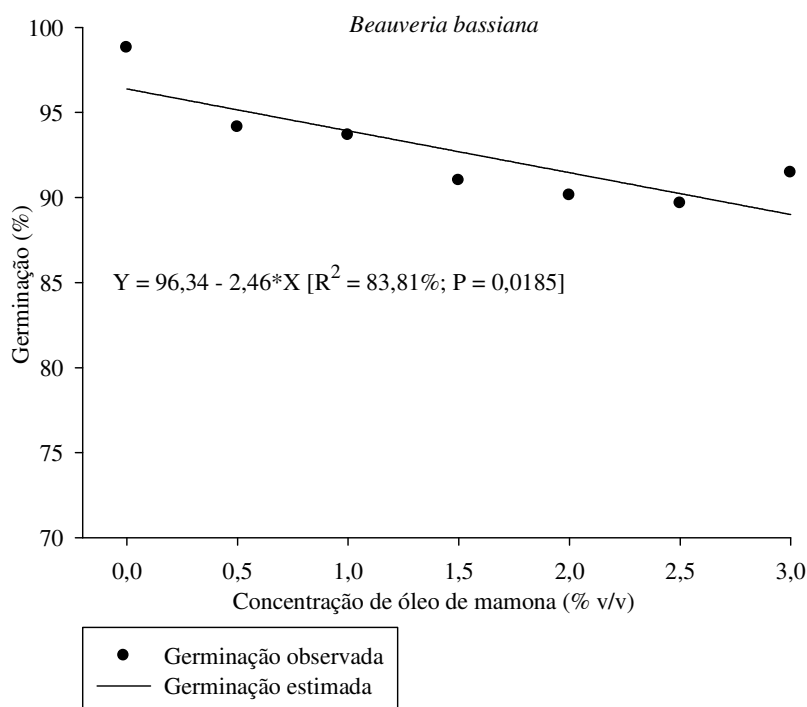


Figura 1. Germinação de conídios de *Beauveria bassiana* em meios de cultura com diferentes concentrações de óleo de mamona. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

3.3.2 Crescimento vegetativo e esporulação

Para os dados relacionados ao crescimento vegetativo houve interação entre os fatores, isolado de *B. bassiana* e concentração do óleo de mamona ($F_{24:175} = 4,20$; $P < 0,0001$) (Tabela 1). Nenhum dos isolados de *B. bassiana* apresentou inibição no crescimento vegetativo nas concentrações de óleo de mamona estudadas. Entretanto, houve diferença significativa entre os isolados dentro de cada concentração. O isolado CCA-UFES/Bb-18 apresentou o maior crescimento vegetativo, com diâmetro médio da colônia de 2,80 cm na concentração de 0,5% (v/v) (Tabela 1). Contudo, os isolados CCA-UFES/Bb-11 e CCA-UFES/Bb-18 apresentaram maior crescimento vegetativo nas concentrações de 1,0; 2,5 e 3,0% (v/v) (Tabela 1). Nas concentrações de 1,5 e 2,0% (v/v) o isolado CCA-UFES/Bb-11 foi superior aos demais isolados, com diâmetro médio da colônia de 2,91 e 2,82 cm, respectivamente (Tabela 1). Esta variação da atividade fungitóxica entre os isolados nas diferentes concentrações, observando maior ou menor impacto sobre os mesmos, pode ocorrer em função da variabilidade genética. Um exemplo dessa

variabilidade foi demonstrado quando se estudou a compatibilidade do formulado comercial de óleo de nim, Margoside® na concentração de 0,3% (v/v) com trinta isolados de *B. bassiana*, onde apenas sete isolados apresentaram redução do crescimento vegetativo (MORAN et al., 2007). Não há relatos da atividade fungitóxica de óleo de mamona sobre fungos entomopatogênicos. Entretanto, para fungos fitopatogênicos, tais como, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., *Fusarium graminearum* Schwabe e *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. essa atividade foi relatada (RIBEIRO & BEDENDO, 1999; TAKANO et al., 2007; MDEE et al., 2010).

Estudando o efeito da concentração do óleo de mamona sobre o crescimento vegetativo verificou-se que somente o isolado CCA-UFES/Bb-4 sofreu ação das diferentes concentrações, sendo que os dados ajustaram-se ao modelo linear ($R^2 = 49,41\%$) (Figura 2). Os demais isolados (CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15, CCA-UFES/Bb-18 e ESALQ-447) não tiveram o seu crescimento vegetativo afetado pelas diferentes concentrações de óleo de mamona (Figura 2). Diferenças dessa natureza podem ocorrer, pois a ação dos produtos fitossanitários sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química e da concentração do produto utilizado (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

Com relação à esporulação também houve interação entre os fatores ($F_{24:175} = 6,00$; $P < 0,0001$) (Tabela 1). Todos os isolados de *B. bassiana* apresentaram esporulação nas concentrações de óleo de mamona estudadas. Porém, estes diferiram entre si, verificando-se que o isolado CCA-UFES/Bb-4 foi melhor que os demais em todas as concentrações, com valores de esporulação superiores a $3,27 \times 10^7$ conídios/mL, exceto para as concentrações de 2,0 e 3,0% (v/v) (Tabela 1). Na concentração de 2,0% (v/v) o mesmo não diferiu do isolado CCA-UFES/Bb-18, apresentando valores esporulação de $6,01$ e $4,22 \times 10^7$ conídios/mL, respectivamente (Tabela 1). Já na concentração de 3,0% (v/v) este isolado não diferiu dos isolados CCA-UFES/Bb-11 e CCA-UFES/Bb-18, sendo que estes diferiram dos demais isolados (Tabela 1). A esporulação é considerada um dos parâmetros mais influentes, pois os conídios são estruturas do fungo que se disseminam no ambiente e estes são responsáveis pelo início da infecção no campo (ALVES, 1998a). A variação apresentada por este parâmetro provavelmente está associada à variabilidade genética. Essa justificativa

também foi abordada por outros autores para explicar as diferenças existentes entre isolados de *B. bassiana*, quanto à sensibilidade a produtos químicos sintéticos (TODOROVA et al., 1998; TAMAI et al., 2002).

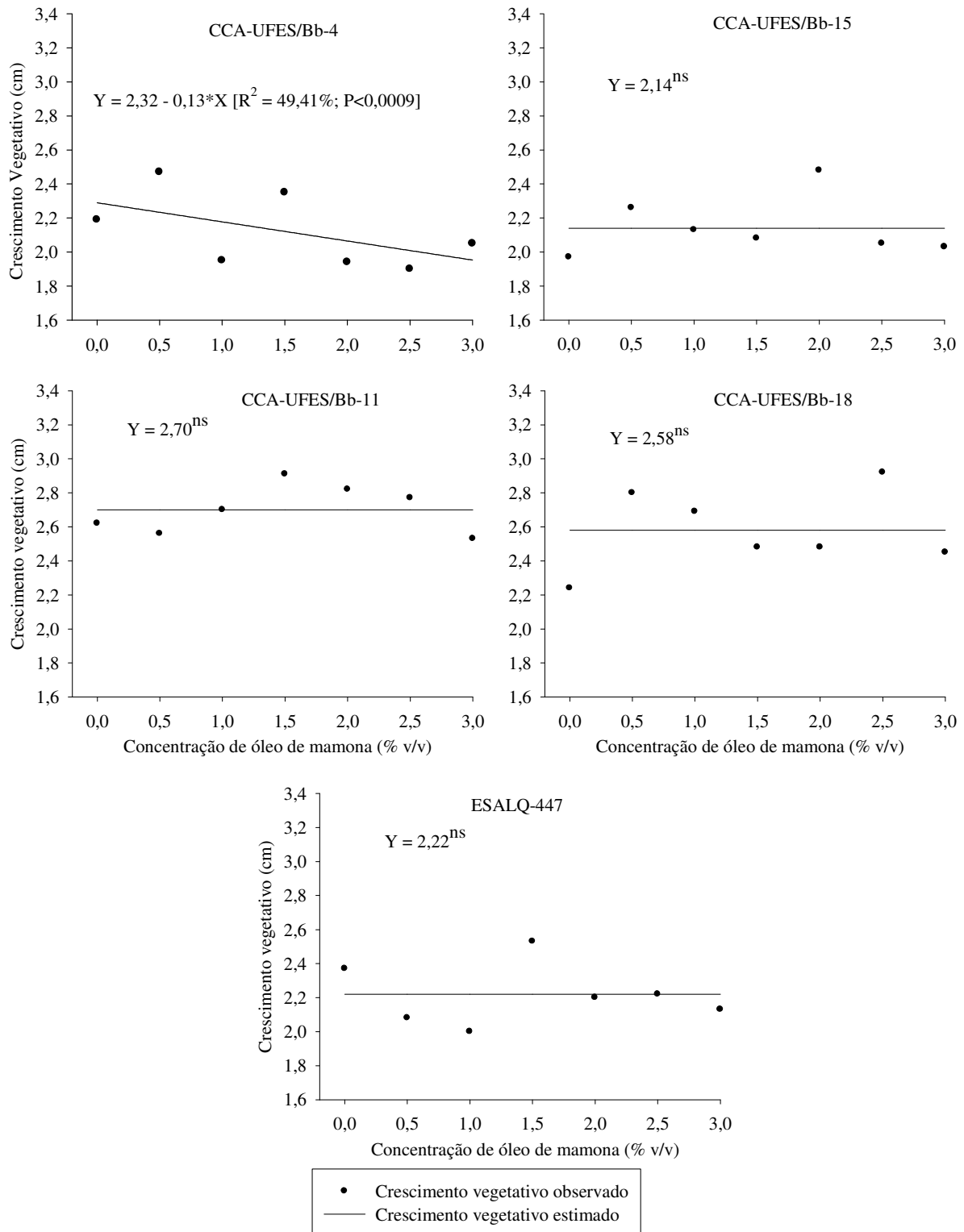


Figura 2. Crescimento vegetativo de *Beauveria bassiana* em meios de cultura com diferentes concentrações de óleo de mamona. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, (ns) não significativo.

A correlação entre as concentrações de óleo de mamona e a esporulação apresentou-se inversamente proporcional para todos os isolados testados, ajustando-se ao modelo linear ($R^2 = 78,86; 69,78; 84,41; 80,82; 76,01\%$, respectivamente) (Figura 3). Essa redução da esporulação em função da concentração, provavelmente está relacionada à maior concentração do princípio ativo por volume do meio de cultura. Apesar do isolado CCA-UFES/Bb-4 ter apresentado maior redução da esporulação em função das concentrações, com coeficiente angular de -4,15, esse isolado também foi o que apresentou maior valor do intercepto (18,11), ou seja, maior valor inicial de esporulação, apresentando na concentração de 3,0% (v/v) um dos maiores valores de esporulação (Figura 3, Tabela 1). Esse parâmetro também foi afetado pelo óleo de nim, reduzindo o em função do aumento da concentração (HIROSE et al., 2001; MARQUES et al., 2004; DEPIERI et al., 2005; ISLAM et al., 2010).

3.3.3 Índice biológico (IB)

Com base no índice biológico proposto por Alves et al. (2007), todas as concentrações de óleo de mamona estudadas foram compatíveis com os isolados CCA-UFES/Bb-11 e CCA-UFES/Bb-18 (Tabela 2). Para o isolado CCA-UFES/Bb-4 todas as concentrações foram classificadas como compatíveis, exceto a de 3,0% (v/v) que foi classificada como moderadamente tóxica. Entretanto, para o isolado CCA-UFES/Bb-15 apenas as concentrações 2,5 e 3,0% (v/v) de óleo de mamona foram classificadas como moderadamente tóxicas, sendo as demais compatíveis. Todas as concentrações foram classificadas com moderadamente tóxicas ao isolado ESALQ-447, demonstrando que os novos isolados apresentaram menor sensibilidade ao óleo de mamona em relação ao isolado padrão (Tabela 2). Esses resultados evidenciam que a compatibilidade do óleo de mamona com os isolados de *B. bassiana* pode ser influenciada pela variabilidade genética e pela concentração do óleo, o que reforça a importância desse tipo de bioensaio na escolha da melhor forma de utilização desses métodos.

Desta forma, com base nos resultados apresentados espera-se que as concentrações do óleo de mamona que foram consideradas compatíveis com os

isolados testados nesta pesquisa também o sejam quando aplicados em condições de campo. Formulações à base de óleo têm melhorado a eficácia de fungos entomopatogênicos para o controle de uma ampla gama de insetos e ácaros-praga

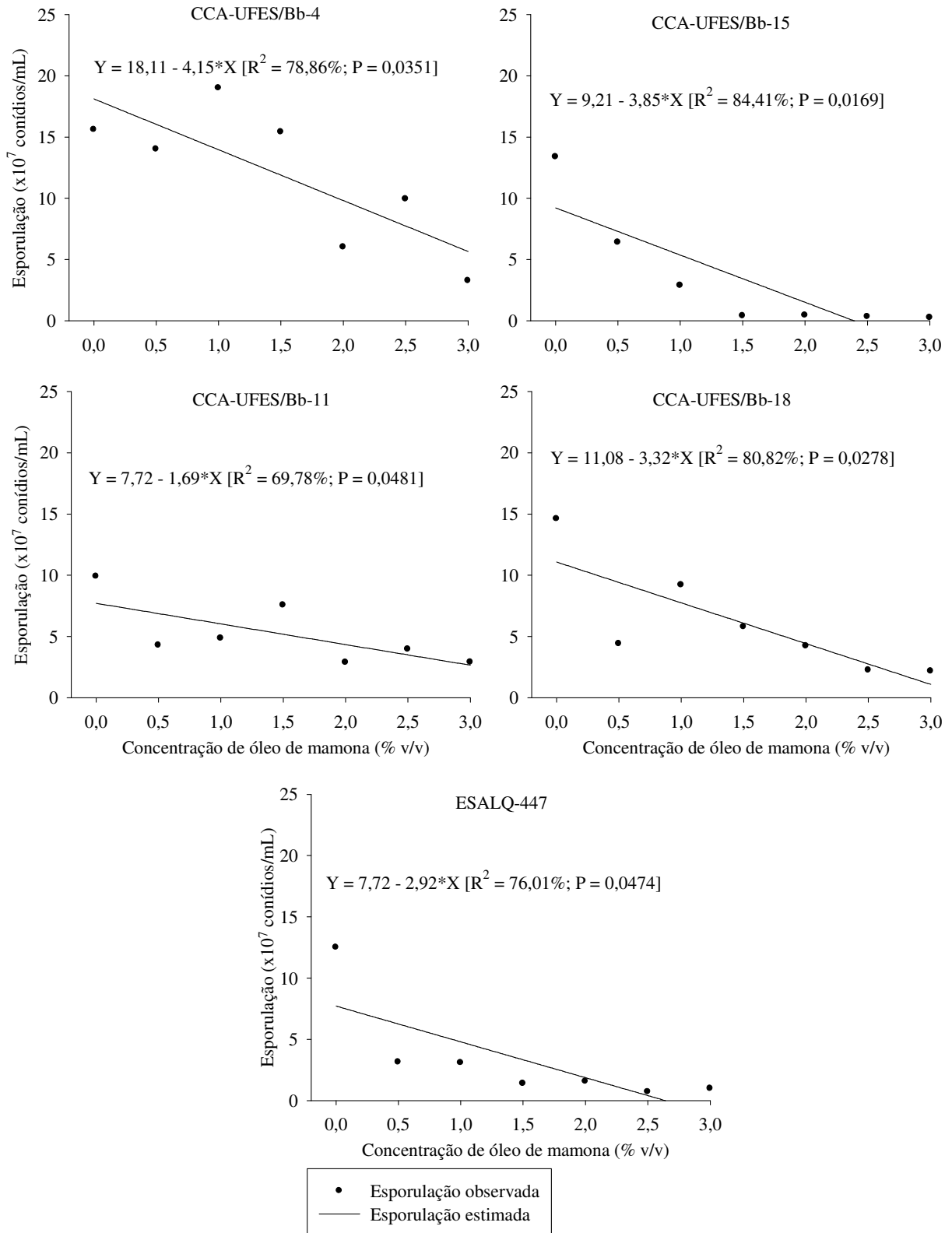


Figura 3. Esporulação de *Beauveria bassiana* em meios de cultura com diferentes concentrações de óleo de mamona. Temperatura de 25 ± 1 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tabela 2. Classificação (CL) do óleo de mamona quanto à compatibilidade *in vitro* sobre isolados de *Beauveria bassiana*, baseado no valor do índice biológico (IB).

Concentração (% v/v)	Isolado de <i>B. bassiana</i>									
	CCA-UFES/ Bb-4		CCA-UFES/ Bb-11		CCA-UFES/ Bb-15		CCA-UFES/ Bb-18		ESALQ-447	
	IB	CL ¹	IB	CL	IB	CL	IB	CL	IB	CL
0,5	101,46	C	73,56	C	84,39	C	81,23	C	60,72	MT
1,0	104,09	C	78,76	C	70,04	C	93,06	C	59,24	MT
1,5	102,57	C	93,76	C	66,81	C	78,45	C	63,15	MT
2,0	67,77	C	71,95	C	70,51	C	73,82	C	56,61	MT
2,5	77,77	C	75,97	C	59,87	MT	77,35	C	54,05	MT
3,0	62,74	MT	66,84	C	59,20	MT	67,26	C	53,37	MT

¹Segundo Alves et al. 2007, valores de IB: entre 0 e 41 = tóxico (T); entre 42 e 66 = moderadamente tóxico (MT); e maiores que 66 = compatível (C).

(MALSAM et al., 2002; YING et al., 2003; LUZ et al., 2004; SHI et al., 2008; MICHEREFF FILHO et al., 2009a). Estes resultados podem ser atribuídos a fatores, tais como, o aumento na fixação dos conídios à cutícula hidrofóbica dos insetos e ácaros; às alterações na camada de cera da cutícula do inseto, assegurando o processo de infecção do entomopatógeno; a redução da necessidade de alta umidade durante a etapa de germinação no processo de infecção devido à umidade conferida pelo óleo; à melhor dispersão dos conídios; maiores taxas de germinação e à maior persistência dos conídios na superfície vegetal após a sua aplicação, pois o óleo pode proporcionar proteção contra fatores ambientais adversos, principalmente, a radiação ultravioleta (INGLIS et al., 1995; ALVES et al., 1998b; JONES & BURGESS, 1998; CASTRILLO et al., 2005).

Além disso, a compatibilidade de *B. bassiana* com óleo de mamona permite ainda à possibilidade de produzir uma formulação à base desse óleo, com intuito de conservar a viabilidade dos conídios por um longo período. Este tem sido um dos grandes problemas das formulações a base de fungos entomopatogênicos, que são armazenadas apenas por curtos períodos (HONG et al., 2005; MICHEREFF FILHO et al., 2009b).

3.4 CONCLUSÃO

Todos os isolados de *B. bassiana* apresentam grande potencial de utilização associados com óleo de mamona para o manejo da broca-do-café. O isolado CCA-UFES/Bb-4 apresentou os maiores valores de germinação e esporulação. O isolado CCA-UFES/Bb-11 apresentou os maiores valores de crescimento vegetativo. Todos os isolados apresentaram redução da esporulação em função da concentração do óleo de mamona.

3.5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I.P. DE; DUARTE, M.E.M.; MATA, M.E.R.M.C.; FREIRE, R.M.M.; GUEDES, M.A. Armazenamento de feijão macassar tratado com mamona: estudo da prevenção do *Callosobruchus maculatus* e das alterações nutricionais do grão. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, n.2, p.133-140. 2005.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos, p.289-382. In: ALVES, S.B. (Ed.), **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998a.

ALVES, R.T.; BATEMAN, R.P.; PRIOR, C.; LEATHER, S.R. Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations. **Crop Protection**, Lincoln, v.17, n.8, p.675-679. 1998b.

ALVES, S.B.; HADDAD, M.L.; FAION, M.; BAPTISTA, G.C.; ROSSI-ZALAF, L.S. Novo índice biológico para classificação da toxicidade de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. X SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO - SICONBIOL, Brasília 2007. **Anais...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. (CD-Room).

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Resolução-RDC Nº 28, de 9 de agosto de 2010**: Regulamento Técnico para o Ingrediente Ativo Endossulfam em decorrência da reavaliação toxicológica. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6100f50043e82e66a33dbbf12823b55a/DecisC3%A3o+final+da+Reavalia%C3%A7%C3%A3o+Toxicol%C3%B3gica+do+Endossulfam+%E2%80%93+RDC+n%C2%BA+28+de+9+de+agosto+de+2010.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 20 dez. 2010.

AUDI, J.; BELSON, M.; PATEL, M.; SCHIER, J.; OSTERLOH, J. Ricin poisoning: A comprehensive review. **JAMA**, Chicago, v.294, n.18, p. 2342-2351. 2005.

BERNARDI, E.; PINTO, D.M.; NASCIMENTO, J.S.; RIBEIRO, P.B.; SILVA, C.I. Efeito dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre o desenvolvimento de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.127-129. 2006.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SCUKLING, D.M. Endosulphan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, California, v.82, n.5, p.1311-1316. 1989.

BRUN, L.O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V. Cross resistance between insecticides in coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), from New Caledonia **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.84, n.2, p.175-178. 1994.

BUSTILLO PARDEY, A.E. Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae), en Colombia. **Revista Colombiana Entomologia**, v.32, n.2, p.101–116. 2006.

CARNEIRO, S.M. DE T.P.G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M.E. DA C.; GOMES, J.C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.1, p.34-39. 2007.

CASTRILLO, L.A.; ROBERTS, D.W.; VANDENBERG, J.D. The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction. **Journal of Invertebrate Pathology**, Marceline, v.89, n.1, p.46-56. 2005.

CAZAL, C. DE M.; BATALHÃO, J.R.; DOMINGUES, V. DE C.; BUENO, O.C.; RODRIGUES FILHO, E.; FORIM, M.R.; SILVA, M.F.G.F. DA; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B. High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis*. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1216, n.19, p.4290–4294. 2009.

DALVI, L.P. **Coleta, caracterização molecular e seleção de isolados de *Beauveria bassiana* visando ao controle da broca-do-café no Espírito Santo**. Alegre, 2008. Dissertação de mestrado, PPGPV/UFES.

DEPIERI, R.A.; MARTINEZ, S.S.; MENEZES JR., A.O. Compatibility of the Fungus *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with Extracts of Neem Seeds and Leaves and the Emulsible Oil. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.34, n.4, p.601-606. 2005.

HABIB, M.E.M.; ALVES, S.B.; ALVES, L.F.A. Padronização de inseticidas microbianos. p.779-797. In: ALVES, S. B. (ed.), **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.

HEBLING, M.J.A. Toxic effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, Cardiff, v.86, n.3, p.253-256. 1996.

HIROSE, E.; NEVES, P.M.O.J.; ZEQUI, J.A.C.; MARTINS, L.H.; PERALTA, C.H.; MOINO JR, A. Effect of Biofertilizers and Neem Oil on the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.44, n.4, p.419 – 423. 2001.

HONG, T.D.; EDGINGTON, S.; ELLIS, R.H.; MURO, M.A. DE; MOORE, D. Saturated salt solutions for humidity control and the survival of dry powder and oil formulations of *Beauveria bassiana* conidia. **Journal of Invertebrate Pathology**, Marceline, v.89, n.2, p.136-143. 2005.

INGLIS, G.D.; GOETTEL, M.S.; JOHNSON, D.L. Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, San Diego, v.5, n.4, p. 581-590. 1995.

ISLAM, M.T.; OLLEKA, A.; REN, S. Influence of neem on susceptibility of *Beauveria bassiana* and investigation of their combined efficacy against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* on eggplant. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Amherst, v.98, n.1, p.45–49. 2010.

JONES, K.A.; BURGESS, H.D. Technology of formulation and application. p. 7-30. In: BURGESS, H.D. (Ed.). **Formulation of microbial pesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1998.

LORD, M.J.; ROBERTS, L.M.; ROBERTUS, J.D. Ricin: structure, mode of action and some current applications. **The FASEB Journal**, Bethesda, v.8, n.2, p. 201-208. 1994.

LUZ, C.; ROCHA, L.F.N.; NERY, G.V.; MAGALHÃES, B.P.; TIGANO, M.S. Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n.2, p. 211-218. 2004.

MALSAM, O.; KILIAN, M.; OERKE, E.C.; DEHNE, H.W. Oils for increased efficacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 12, n.3, p. 337-348. 2002.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1675-1680. 2004.

MDEE, L.K.; MASOKO, P.; ELOFF, J.N. The activity of extracts of seven common invasive plant species on fungal phytopathogens. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburg, v.75, n.2, p.375–379. 2009.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M.R.; OLIVEIRA, S.O.D. DE; SOUZA, R.E.T.; ALLAM, T.D.; BARON, E.B.; OLIVEIRA, M.W.M.; GUIMARÃES, J.A.; LIZ, R.S. DE; SCHMIDT, F.G.V. **Desenvolvimento de Biopesticida à Base de *Beauveria bassiana* para Controle de *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009a.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M.; WRAIGHT, S.P.; SILVA, K.F.A.S. Micoínseticidas e micoacaricidas no Brasil: Como estamos após quatro décadas? **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.769-779. 2009.

MOHAN, M.C.; REDDY, N.P.; DEVI, U.K.; KONGARA, R.; SHARMA, H.C. Growth and insect assays of *Beauveria bassiana* with neem to test their compatibility and synergism. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v.17, n.10, p.1059-1069. 2007.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.34, n.1, p.77-82. 2005.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.4, p.1267-1271. 1999.

ROSSI-ZALAF, L.S.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M.R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p.279-302. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008.

SANTIAGO, G.P.; PÁDUA, L.E. DE M.; SILVA, P.R.R.; CARVALHO, E.M.S.; MAIA, C.B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.792-796. 2008.

SILVA, R.Z. DA; NEVES, P.M.O.J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and *in vitro* phytosanitary products. **Pest Management Science**, Malden, v.61, n.7, p.667-674. 2005.

SILVA, R.Z. DA; NEVES, P.M.O.J.; SANTORO, P.H.; CAVAGUCHI, S.A. Efeito de Agroquímicos à Base de Óleo Mineral e Vegetal sobre a Viabilidade dos Fungos Entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Paecilomyces* sp. Bainier. **BioAssay**, Piracicaba, v.1, n.1, p.1-5. 2006.

SHI, W.B.; ZHANG, L.L.; FENG, M.G. Field trials of four formulations of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisoplae* for control of cotton spider mites (Acari: Tetranychidae) in the Tarim Basin of China. **Biological Control**, San Diego, v.45, n.1, p.48-55. 2008.

SOARES, W.L.; FREITAS, E.A.V. DE; COUTINHO, J.A.G. Trabalho rural e saúde: intoxicações por agrotóxicos no município de Teresópolis - RJ. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v.43, n.4, p.685-701. 2005.

TAKANO, E.H.; BUSSO, C.; GONÇALVES, E.A.L.; CHIERICE, G.O.; CATANZARO-GUIMARÃES, S.A.; CASTRO-PRADO, M.A.A. DE. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.5, p.1235-1240. 2007.

TAMAI, M.A.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; FAION, M.; PADULLA, L.F.L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.89-96. 2002.

TODOROVA, S.I.; CODERRE, D.; DUCHESNE, R.M.; CÔTÉ, J.C. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. **Environmental Entomology**, Lanham, v.27, n.2, p.427-433. 1998.

YING, S.H.; FENG, M.G.; XU, S.T.; MA, Z.B. Field efficacy of emulsifiable suspensions of *Beauveria bassiana* conidia for control of *Myzus persicae* population on cabbage. **Chinese Journal of Applied Ecology**, Beijing, v.14, n.4, p.530-535. 2003.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo de mamona atua tanto por ingestão quanto por contato, sendo que a associação de ambos confere uma melhor eficiência no controle da broca-do-café. A mortalidade da broca-do-café aumenta em função da concentração e do tempo. A via de aplicação por ingestão + contato apresentou uma CL_{50} para óleo de mamona de 1,31% (v/v). Este trabalho é pioneiro, e tem como objetivo fornecer uma nova ferramenta a ser utilizada no Manejo Fitossanitário da broca-do-café (*H. hampei*) e com boas perspectivas de ser estudada para controle de outras pragas. Contudo, para que essa técnica possa ser empregada, estudos mais detalhados do modo de ação, de emulsificantes para maior solubilidade em água, da persistência no ambiente, dos riscos potenciais para os inimigos naturais e organismos não-alvo e da fitotoxicidade para as culturas devem ser realizados.

Com base nos resultados apresentados nesta dissertação, o sucesso de uma formulação é muito promissor. Visto que, todos os isolados de *B. bassiana* apresentam grande potencial de utilização associados com óleo de mamona para o manejo da broca-do-café. No entanto, para que estes métodos possam ser utilizados no Manejo Fitossanitário da broca-do-café, é necessário estudar a eficiência da aplicação associada dos isolados de *B. bassiana* com óleo de mamona sobre *H. hampei*, considerando variáveis como: temperatura, umidade relativa do ar, radiação ultravioleta e tempo de armazenamento da formulação. Estas propriedades são de importância prática, podendo dar informações úteis sobre as formulações mais adequadas, forma de transferência e sistemas de manejo de resistência das pragas.