

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

FLÁVIO NEVES CELESTINO

**TÉCNICA DE CRIAÇÃO E ASSOCIAÇÃO DE MÉTODOS DE  
CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)**

ALEGRE - ES

2014

FLÁVIO NEVES CELESTINO

**TÉCNICA DE CRIAÇÃO E ASSOCIAÇÃO DE MÉTODOS DE  
CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)**

Tese de Doutorado 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 Doutor em Produção Vegetal, área de concentração Fitossanidade.

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

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

Coorientador: Prof. Dr. Vagner Tebaldi de Queiroz

ALEGRE - ES

2014

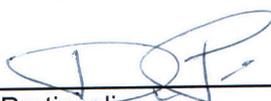
FLÁVIO NEVES CELESTINO

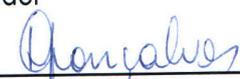
**TÉCNICA DE CRIAÇÃO E ASSOCIAÇÃO DE MÉTODOS DE  
CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)**

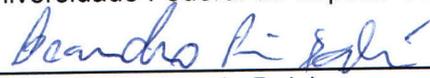
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração Fitossanidade.

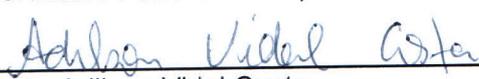
Aprovado em 28 de Novembro de 2014.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Dirceu Pratissoli  
Universidade Federal de Espírito Santo  
Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior  
Universidade Federal de Espírito Santo

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi  
Universidade Federal de Espírito Santo

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Adilson Vidal Costa  
Universidade Federal de Espírito Santo

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Reginaldo Barros  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

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, 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 Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade dada a minha formação profissional.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para as pesquisas.

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

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior e Prof. Dr. Vagner Tebaldi de Queiroz, pelo apoio e colaboração.

À Lorena Contarini Machado pelo auxílio nos experimentos e, principalmente, pela amizade no decorrer do meu doutorado.

Aos amigos da república CMJ: Luan, Allan e Isaque.

Aos funcionários e amigos do NUDEMAFI: Dona Carlota, Leonardo, Carlos Magno, Laura, Marcel, Vando, Victor Pirovani, Débora, Luziani, Lauana, Priscila, João Paulo, Wilson, Hígor, Amanda, Ingrid, Luana, Kharen, José Romário, Vitor Zuim, Anderson, Aixelhe e a todos que de alguma forma me ajudaram.

Aos membros da minha banca examinadora: Prof. Dr. Reginaldo Barros, Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi e Prof. Dr. Adilson Vidal Costa, pela disponibilidade.

## **BIOGRAFIA**

Flávio Neves Celestino nasceu em 20 de março de 1986, no município de Muqui, Espírito Santo, Brasil.

Residente em Jerônimo Monteiro, Espírito Santo, Brasil.

Em 2001 ingressou no curso Técnico em Agropecuária da Escola Agrotécnica Federal de Alegre (EAFA), atual IFES *Campus Alegre*, formando-se no ano de 2003.

Em 2004 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal do Espírito Santo, graduando-se no ano de 2008.

Em agosto de 2008 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, tornando-se mestre em fevereiro de 2011.

Em março de 2011 ingressou no curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, defendendo a tese em novembro de 2014.

Desde outubro de 2014 desempenha a função de Agente de Pesquisa e Inovação em Desenvolvimento Rural – Fitotecnia Geral, no Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER).

## TÉCNICA DE CRIAÇÃO E ASSOCIAÇÃO DE MÉTODOS DE CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)

### RESUMO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), tem sido a grande responsável por perdas causadas à cafeicultura. Desta forma, tem-se buscado alternativas para o controle dessa praga, tais como os inseticidas botânicos e o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales). Assim, esse trabalho teve como objetivos: (1) avaliar técnicas de criação da broca-do-café; (2) avaliar a utilização de inseticidas botânicos, óleos minerais e o inseticida contendo azadiractina (ICA); e (3) verificar a compatibilidade *in vivo* entre o óleo de mamona e o fungo *B. bassiana*, visando ao manejo de *H. hampei*. A partir dos resultados, verificou-se que a melhor técnica para criação da broca-do-café é em café robusta em coco, sem a necessidade de qualquer processo de assepsia, podendo ser armazenado em freezer a -20 °C para ser utilizado durante a entressafra. Com base nos estudos de atividade inseticida, o ICA (3,0% v v<sup>-1</sup>) e o óleo de mamona (3,0% v v<sup>-1</sup>) causaram 40,8 e 53,7% de mortalidade da broca-do-café, respectivamente. O extrato da torta da semente de mamona não apresentou toxicidade sobre *H. hampei*. O óleo de mamona causou a mortalidade da broca-do-café, sendo provavelmente devido ao bloqueio dos espiráculos, impedindo a respiração desse inseto. Óleo de mamona apresentou efeito antagônico sobre *B. bassiana* reduzindo a mortalidade da broca-do-café. Houve redução da mortalidade de *H. hampei* causada pela interação entre *B. bassiana* e o óleo de mamona em função do aumento da concentração do óleo de mamona. Para concentrações mais elevadas de *B. bassiana* observou-se menor interferência do óleo de mamona. Mediante os resultados encontrados, o manejo de *H. hampei* pode ser realizado utilizando-se a associação entre o óleo de mamona e o fungo *B. bassiana*, desde que se observe a viabilidade econômica e a concentração de ambos.

Palavras-chave: *Ricinus communis*, *Beauveria bassiana*, Controle biológico, Manejo fitossanitário de praga, Cafeicultura.

## TECHNICAL CREATION AND ASSOCIATION OF METHODS OF CONTROL COFFEE BERRY BORER, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)

### ABSTRACT

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) is largely responsible for losses caused to the coffee culture. Thus, it has been sought alternatives for the control of this pest, such as the botanical insecticides and the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales). Thus, this study aimed to: (1) evaluate techniques creation of coffee berry borer; (2) evaluate the use of botanical insecticides, mineral oils and insecticide azadirachtin contents (ICA); and (3) verify the compatibility between castor oil and *B. bassiana*, aiming at the management of *H. hampei*. From the results, the best technique for rearing of the coffee berry borer is in robust coffee beans, without any process of asepsis, which can be stored in freezer at -20 °C for use during the off season. The extract of castor bean pie showed no toxicity on *H. hampei*. Castor oil was relatively low persistence in the environment. Castor oil caused mortality of coffee berry borer being probably due to blockage of spiracles, preventing insect breathing. Castor oil showed antagonistic effect on *B. bassiana* reducing mortality of coffee berry borer. There was a reduction in mortality of *H. hampei* caused by the interaction between *B. bassiana* and castor oil, function to the increased concentration of castor oil. For higher concentrations of *B. bassiana* was observed less interference from castor oil. Upon the results, the management of *H. hampei* can be performed using the association between castor oil and fungus *B. bassiana*, however, it should be noted the economic viability and the concentration of both being used.

Keywords: *Ricinus communis*, *Beauveria bassiana*, Biological control, Integrated pest management, Coffee culture.

## SUMÁRIO

<b>1 CAPÍTULO I</b> .....	10
1.1 INTRODUÇÃO.....	10
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
<b>1.2.1 A broca-do-café <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)</b> .....	12
<b>1.2.2 Técnicas de criação da broca-do-café</b> .....	13
<b>1.2.3 Manejo fitossanitário da broca-da-café</b> .....	15
1.2.3.1 Controle cultural.....	16
1.2.3.2 Controle químico.....	16
1.2.3.3 Inseticidas botânicos.....	17
1.2.3.4 Controle biológico.....	22
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
<b>2 CAPÍTULO II</b> .....	39
<b>ADAPTAÇÃO DE TÉCNICAS DE CRIAÇÃO DA BROCA-DO-CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i> (FERRARI)</b> .....	39
<b>RESUMO</b> .....	39
<b>ABSTRACT</b> .....	40
2.1 INTRODUÇÃO.....	41
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
<b>2.2.1 Criação e manutenção de <i>H. hampei</i></b> .....	42
<b>2.2.2 Adaptações das técnicas de criação da broca-do-café</b> .....	43
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
2.4 CONCLUSÃO.....	50
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	52
<b>3 CAPÍTULO III</b> .....	56
<b>CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i> (FERRARI) COM INSETICIDAS BOTÂNICOS E ÓLEOS MINERAIS</b> .....	56
<b>RESUMO</b> .....	56
<b>ABSTRACT</b> .....	57
3.1 INTRODUÇÃO.....	58
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59

3.2.1 Criação e manutenção de <i>H. hampei</i> .....	60
3.2.2 Identificação dos constituintes químicos do óleo de mamona.....	61
3.2.3 Testes de atividade inseticida de óleos vegetais, óleos minerais e do inseticida contendo azadiractina.....	61
3.2.4 Estimativa da concentração letal média (CL <sub>50</sub> ).....	63
3.2.5 Obtenção e teste de atividade inseticida de derivados da mamona...	63
3.2.6 Poder residual do óleo de mamona.....	64
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
3.3.1 Identificação dos constituintes químicos do óleo de mamona.....	65
3.3.2 Testes de atividade inseticida de derivados vegetais, óleos minerais e do inseticida contendo azadiractina.....	66
3.3.3 Poder residual do óleo de mamona.....	69
3.4 CONCLUSÃO.....	73
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
<b>4 CAPÍTULO IV.....</b>	<b>82</b>
<b>COMPATIBILIDADE <i>IN VIVO</i> ENTRE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILLEMIN E O ÓLEO DE MAMONA SOBRE <i>Hypothenemus hampei</i> (FERRARI).....</b>	<b>82</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>82</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>83</b>
4.1 INTRODUÇÃO.....	84
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	85
4.2.1 Criação e manutenção de <i>H. hampei</i> .....	86
4.2.2 Obtenção e produção de <i>B. bassiana</i> .....	86
4.2.3 Extração do óleo de mamona.....	87
4.2.4 Compatibilidade entre o óleo de mamona e <i>B. bassiana</i> .....	87
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	89
4.4 CONCLUSÃO.....	96
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>103</b>

## 1 CAPÍTULO I

### 1.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café, sendo responsável por 33,73% das exportações mundiais (OIC, 2014). As espécies cultivadas são *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. Os Estados de Minas Gerais e Espírito Santo são os principais produtores e na safra de 2013 foram responsáveis por 56,3 e 23,8% 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 dessa espécie e na safra de 2013 produziu o equivalente a 8,21 milhões de sacas, que representou 70% da produção estadual de café (CONAB, 2014).

Apesar dessas elevadas produções, diversos problemas fitossanitários afetam a cafeicultura, sendo a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), o principal (VEGA et al., 2009). Essa praga ataca os frutos em todos os estágios de desenvolvimento, comprometendo a produção e alterando a qualidade do café devido a microrganismos oportunistas (BATISTA et al., 2003; VEGA et al., 2009). Desta forma, os prejuízos causados à cultura chegam a afetar a economia de mais de 25 milhões de pequenos agricultores no mundo (FAIRTRADE FOUNDATION, 2014).

Embora haja preocupação constante e esforços para implantar medidas de controle menos prejudiciais ao ambiente e conseqüentemente ao homem, o controle químico tem sido utilizado massivamente (CURE et al., 1998). Contudo, isso tem levado à redução dos inimigos naturais, favorecido o surgimento de populações resistentes e comprometido a segurança alimentar em toda a cadeia produtiva (NEVES & HIROSE, 2005; SANTOS et al., 2013).

Na busca por soluções para os problemas citados, métodos alternativos como a utilização de inseticidas botânicos e o controle biológico vêm assumindo importante papel nos 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 métodos em consonância com princípios ecológicos, econômicos e sociais, com o objetivo de manter a população dos insetos-praga em níveis aceitáveis. Nos programas de Manejo Fitossanitário de Pragas a associação de métodos de manejo pode representar um incremento no controle da praga, porém torna-se necessário a realização de estudos de compatibilidade (ALVES, 1998; AGUIAR-MENEZES, 2003).

Desta forma, diversos métodos podem ser estudados e implementados no manejo da broca-do-café, como é o caso da utilização dos inseticidas botânicos obtidos de plantas que produzem compostos secundários com ação inseticida (MIRESMAILLI & ISMAN, 2014). Os inseticidas botânicos são derivados principalmente de espécies das famílias Meliaceae, Piperaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Moringaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Verbenaceae e Chenopodiaceae, sendo que essas apresentaram atividade inseticida sobre a broca-do-café (DEPIERI & MARTINEZ, 2010; SANTOS et al., 2010; PÉREZ et al., 2012; ZORZETTI, et al., 2012; MENDESIL et al., 2012; MAWUSSI et al., 2012).

Outro método é a utilização dos agentes naturais de controle, com destaque para o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) (LACHAUD et al., 2002; BUSTILLO PARDEY, 2005). Esses fungos apresentam como vantagem a possibilidade de ser usado isoladamente ou integrado com outros métodos, como os inseticidas botânicos, inseticidas químicos sintéticos seletivos, variedades de plantas resistentes a insetos, entre outros (MARQUES et al., 2004; DEPIERI et al., 2005; ROSSI-ZALAF et al., 2008). Assim, o objetivo desta pesquisa foi aprimorar a técnica de criação da broca-do-café e estudar a associação de métodos de controle para essa praga.

## 1.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1 A broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

A broca-do-café, *H. hampei*, é uma praga de origem africana, sendo descrita por Ferrari em 1867 (DAMON, 2000). Na América, foi relatada por volta de 1913 no estado de São Paulo, onde a partir de 1924 os prejuízos causados pela broca foram mais evidentes, com posterior disseminação por todas as regiões produtoras do país (FORNAZIER et al., 2007).

O adulto de *H. hampei* é um besouro de cor preta brilhante e com tamanho reduzido. As fêmeas medem de 1,6 a 1,9 mm e os machos de 1,0 a 1,3 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 voo, já os machos possuem asas rudimentares, e por essa razão eles não voam e não saem do fruto onde se originaram (FORNAZIER et al., 2007). Em estudo recente também foi constatado que o macho da broca-do-café possui um olho composto rudimentar, possivelmente associado à sua incapacidade de voo (VEGA et al., 2014).

A proporção na população é de 1 macho para 10 fêmeas, provavelmente devido à presença da bactéria endossimbionte do gênero *Wolbachia* (VEGA et al., 2002). Após o acasalamento as fêmeas saem à procura de frutos sadios e os perfuram 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 157 dias, põe de 31 a 119 ovos; o período de incubação dos ovos leva de 4,3 a 7,7 dias, enquanto que o período larval dura entre 12 a 17 dias e a duração pupal está entre 5,2 a 6,5 dias, temperaturas entre 23 a 27 °C (JARAMILLO et al., 2009a). Para que haja o desenvolvimento e reprodução da broca-do-café é necessário um teor médio de umidade dos grãos de 45% (HIROSE & NEVES, 2002). Nessas condições a broca-do-café pode ter até sete gerações por ano, e devido à alta longevidade e fecundidade atravessa facilmente o período de entressafra, causando danos à produção do ano seguinte (FORNAZIER et al., 2007).

Por causar danos aos frutos, a parte mais importante do café, essa é a principal praga da cultura cafeeira, sendo encontrada em quase todos os países produtores (BUSTILLO PARDEY, 2006). O ataque dessa praga causa prejuízos quantitativos

devido à perda de peso, queda dos frutos novos brocados e apodrecimento de sementes, e prejuízos qualitativos devido à depreciação da qualidade da bebida pelo aumento no número de defeitos nos grãos como: grãos brocados, grãos quebrados, preto verde, preto ardido e contaminação por microrganismos (BATISTA et al., 2003; VEGA et al., 2009).

### **1.2.2 Técnicas de criação da broca-do-café**

Para que estudos possam ser desenvolvidos com a broca-do-café, é necessário o domínio de técnicas de criação que permitam a produção de insetos em quantidade e com qualidade. Apesar da importância dessa praga, as técnicas atuais apresentam falhas que dificultam a produção massal da broca-do-café. As técnicas utilizadas para a criação da broca-do-café podem ser usando dietas artificiais (BRUN et al. 1993, VILLACORTA & BARRERA 1993; CONSTANTINO et al., 2011), frutos maduros de café (INFANTE et al., 1994; HIROSE & NEVES, 2002; JARAMILLO et al., 2009b) ou café pergaminho (BUSTILLO et al., 1996). A criação de insetos em dietas artificiais, apesar de apresentar algumas vantagens como ocupar menor espaço físico e produzir maior número de insetos, também apresenta alguns problemas sanitários que exigem cuidados para evitar a contaminação da dieta, sendo necessários mão de obra especializada e laboratório com maior infraestrutura (HIROSE & NEVES, 2002). De acordo com Portilla & Streett (2006) as dietas artificiais existentes para a broca-do-café não suprem adequadamente os requisitos nutricionais e, conseqüentemente, afetam a fecundidade e a razão sexual.

Outro fato importante é quando se trata de estudos com entomopatógenos, pois a utilização de insetos criados em dieta artificial pode causar alterações na sua eficiência (HIROSE & NEVES, 2002). Além do sistema imunológico do hospedeiro, outro fator que pode alterar indiretamente o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos é a dieta alimentar (CORY & ERICSSON, 2010; SHIKANO et al., 2010). Tal influência no desenvolvimento de entomopatógeno foi constatada para alguns insetos, como por exemplo o aumento do fungo *Ascosphaera aggregata* Skou (Ascomycota: Onygenales) na abelha *Megachile rotundata* (Fabricius)

(Hymenoptera, Apidae) (GOETTEL et al., 1993) e maior suscetibilidade à *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) por *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) quando alimentado em dieta natural em comparação com a dieta artificial (TEFERA & PRINGLE, 2003). Além disso, Hirose & Neves (2002) abordam a hipótese de que resíduos da dieta sobre a cutícula da broca-do-café, devido ao seu comportamento de construção de galerias na dieta, poderão influenciar a germinação dos conídios.

Em se tratando da utilização do fruto maduro do café e do café pergaminho, o principal problema é a contaminação por microrganismos que dificulta manuseio, visto que mais de 50 espécies de fungos ocorrem associados a *H. hampei* e suas galerias, e muitos destes são tóxicos ao homem (PÉREZ et al., 2003; PETERSON et al., 2003; CARRIÓN & BONET, 2004; GAMA et al., 2006). Os principais gêneros de fungos são *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Beauveria* e *Paecilomyces* (PETERSON et al., 2003; PÉREZ et al., 2003; CARRIÓN & BONET, 2004; GAMA et al., 2006).

Algumas espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são contaminantes toxigênicos do café e produzem a micotoxina (ochratoxina A), considerada um problema grave para a saúde humana e para a indústria de café (BATISTA et al., 2003; TANIWAKI et al., 2003; VELMOUROUGANE et al., 2010). Alguns autores sugeriram haver relação mutualística entre *H. hampei* e fungos (ROJAS et al., 1999; MORALES-RAMOS et al., 2000). No entanto, estudo realizado por Pérez et al. (2005) constataram que não há nenhuma evidência para considerarem tais relações dos fungos *Fusarium solani* (Martius) Saccardo (Ascomycota: Moniliales), *Penicillium citrinum* Thom (Ascomycota: Eurotiales) e *Candida fermentati* (Saito) Bai (Ascomycota: Saccharomycetales) com *H. hampei*. Segundo esse autor as três espécies de fungos citadas anteriormente são as mais frequentemente encontradas associadas a *H. hampei*, sendo assim, seria pouco provável que outras espécies de fungo atuassem como mutualistas de *H. hampei*. Deste modo, descontaminações dos cafés coletados de campo não interfeririam no desenvolvimento da broca-do-café em laboratório. Tal fato permite que estudos possam ser desenvolvidos visando reduzir o número de contaminantes presentes, e assim facilitar a condução da criação em laboratório e reduzir o risco de contaminação por toxinas.

Além disso, o sucesso na criação massal de *H. hampei* é dependente, principalmente, do controle da umidade e da temperatura em cada processo, da manutenção diária das condições de assepsia do laboratório, da obtenção suficiente diária de adultos vigorosos da broca e de um fornecimento estável de grãos para manutenção a partir de frutos cerejas saudáveis e maduros (BUSTILLO et al., 1996). As atividades de administração e planejamento são também de grande importância, sendo que todas as informações dos lotes de produção devem ser devidamente registradas para analisar qualquer problema que venha ocorrer (BUSTILLO et al., 1996).

### **1.2.3 Manejo fitossanitário da broca-do-café**

O controle de pragas consiste na adoção de práticas que visem à redução da infestação, mas nunca deve ocorrer a 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, das condições ambientais e do prejuízo causado. Muitas vezes faz-se necessário a associação de dois ou mais métodos para manter a praga abaixo do nível de controle, 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 do usuário (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, com 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 às exigências dos consumidores (ALVES et al., 2007).

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).

#### 1.2.3.1 Controle cultural

O controle cultural deve sempre obedecer aos padrões técnicos recomendados para adubação, irrigação e tratos culturais, criando condições para que a cultura tenha uma maior capacidade de suportar os danos causados por insetos-praga (HAJI et al., 2002). Segundo Fornazier et al. (2007), o controle cultural através do “repassé”, 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).

#### 1.2.3.2 Controle químico

O controle químico baseia-se na utilização de agrotóxicos 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 para o manejo da broca-do-café 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 (SOUZA et al., 2013).

Atualmente os ingredientes ativos registrados para o controle da broca-do-café são o clorpirifós e o etofenproxi, considerados por muitos agricultores como sendo de baixa eficiência. O endossulfan, ingrediente ativo que apresentava maior eficiência para o controle de *H. hampei*, foi retirado do mercado em julho de 2013 (ANVISA, 2014a).

Apesar de o controle químico ser o principal método utilizado pelos agricultores para o manejo de *H. hampei*, tem apresentado baixa eficiência devido à seleção natural de linhagens de insetos resistentes; pode causar também problemas ambientais, como a eliminação da fauna benéfica, a crescente contaminação do solo, água, atmosfera e seres vivos (SANTOS et al., 2013). Assim, a busca por novas alternativas de controle para essa praga, como a utilização de inseticidas botânicos e a adoção do controle biológico, se torna oportuna.

#### 1.2.3.3 Inseticidas botânicos

Os inseticidas botânicos são obtidos de metabólitos secundários produzidos pelas plantas (MIRESMAILLI & ISMAN, 2014). Estes metabólitos podem ser utilizados diretamente como inseticidas ou ainda como modelos para desenvolvimento de novas classes de inseticidas (ISMAN, 2006). Os inseticidas botânicos ou plantas inseticidas são utilizados a cerca de dois milênios na antiga China, Egito, Grécia e Índia. Esses 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, ao baixo efeito residual, fotodegradação, que aponta para a necessidade de várias aplicações em curtos períodos, fez com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos (MIRESMAILLI & ISMAN, 2014).

A preocupação da sociedade com o impacto dos resíduos 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 sustentáveis de manejo de pragas, 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 rotenoides, piretroides, alcaloides e terpenoides, 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 (ISMAN, 2006). Nesse último caso, pode haver retardamento no desenvolvimento do inseto, causando efeito insetistático (PAULIQUEVIS et al., 2013; FERNANDES & FAVERO, 2014).

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 é uma alternativa para manejo de insetos-praga, pois são de fácil obtenção, biodegradáveis e têm poucos efeitos sobre organismos não-alvo (ISMAN, 2000). Os inseticidas botânicos podem ser aplicados no campo e em estufa com os mesmos equipamentos de pulverização utilizados para os inseticidas químicos 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 (ISMAN, 2006; EL-WAKEIL, 2013). 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 (VASCONCELOS et al., 2006).

Uma dessas alternativas e com potencial é mamoneira (*Ricinus communis* L.), que se encontra amplamente distribuída em todo o mundo, principalmente na África do Sul, Índia, Brasil e Rússia (RANA et al., 2012). No Brasil, é conhecida como “palma cristi”, “rícinio” ou “carrapateira”, uma planta exótica pertencente à família Euphorbiaceae, de origem afro-asiática (RODRIGUES et al., 2002). Essa oleaginosa é cultivada principalmente para a produção de óleo não comestível usado na fabricação de biodiesel (CÉSAR & BATALHA, 2010). O óleo de mamona corresponde a cerca de 50 a 60% do peso da semente, sendo constituído por aproximadamente 90% de ácido ricinoleico (JAMES et al., 1965; BALDWIN & COSSAR, 2009). No entanto, *R. communis* é conhecida como uma planta venenosa em que a toxina principal é a ricina, uma glicoproteína altamente solúvel em água (ASSIS JUNIOR et al., 2011). Essa planta também produz ricinina e os alergênicos albuminas 2S, Ric c 1 e Ric c 3 (BIGI et al., 2004; LEITE et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2011). A ricina está presente nas sementes de *R. communis* e pode representar até 5% do peso total de uma semente, enquanto que a ricinina é relatada entre 0,3 e 0,8% (KANG et al., 1985; GANDHI et al., 1994; BRADBERRY et al., 2003). Contudo, o óleo de mamona não possui ricina, pois toda a proteína da semente permanece na torta após o processo de extração (MAIA et al., 2010).

Diante do exposto, alguns estudos utilizando as propriedades inseticidas da 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 (Diptera: Culicidae), *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) e *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae), onde as concentrações de 32 e 64  $\mu\text{g mL}^{-1}$  apresentaram efeito larvicida com 100% de mortalidade (MANDAL, 2010). A utilização de sementes de mamona trituradas a 5 e 10% m m<sup>-1</sup> também demonstrou ser eficiente no controle de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) 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, como verificado com o efeito do extrato aquoso de frutos verdes de *R. communis* a 10% m v<sup>-1</sup> que afetou a duração e viabilidade larval de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) provocando alongamento da duração da fase larval,

inibição do crescimento e deterrência alimentar (SANTIAGO et al., 2008). Outro resultado interessante foi o uso de extrato de folhas verdes (2,2 g L<sup>-1</sup> de água fervida), que reduziu o número de indivíduos da broca-do-café por amostra analisada após 72 horas (PÉREZ et al., 2012).

O óleo das sementes também tem sido um derivado da mamona que tem apresentado atividade inseticida. Para *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), quando discos foliares de couve, com e sem lagartas, foram pulverizados com óleo de mamona a 2% v v<sup>-1</sup>, apresentaram mortalidade de 44,4% e 33,9%, respectivamente (RONDELLI et al., 2011). Em outra pesquisa com larvas de 3<sup>o</sup> instar de *P. xylostella*, o óleo de mamona a 10% v v<sup>-1</sup> apresentou forte efeito larvicida, com 100% de mortalidade para testes de toxicidade por ingestão e por contato (TOUNOU et al., 2011). Em *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), o óleo de mamona a 3,0% v v<sup>-1</sup> foi aplicado sobre a dieta artificial utilizada como substrato alimentar, e causou 44,0% de mortalidade das larvas (BESTETE et al., 2011).

Alguns compostos de *R. communis*, como os ésteres de ácido ricinoleico, atuaram modificando a morfofisiologia dos ovários e das glândulas salivares de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae), e evitaram dois processos importantes: o de reprodução e o de alimentação (ARNOSTI et al., 2011a, 2011b; SAMPIERI et al., 2013). Já a ricinina foi comprovada como ingrediente ativo de *R. communis* e apresentou toxicidade sobre *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) e *S. frugiperda* (BIGI et al., 2004; RAMOS-LÓPEZ et al., 2010). Esta toxina é um alcaloide neutro com ação estimulante do sistema nervoso central, que pode provocar convulsões (FERRAZ et al., 1999).

Os insetos necessitam de muitas enzimas para degradar os alimentos, permitindo posteriormente que sejam absorvidos pelo seu organismo, entre elas está a  $\alpha$ -amilase, responsável por degradar as moléculas de amido (ALVES et al., 2009; MEHRABADI et al., 2011). As sementes de mamona são ricas em inibidores protéicos que agem sobre  $\alpha$ -amilase e outras enzimas que degradam polissacarídeos, fazendo desses, inibidores nutricionais para os insetos (NASCIMENTO et al., 2011). Os principais alergênicos de *R. communis*, as albuminas 2S, Ric c 1 e Ric c 3, apresentaram atividade sobre a  $\alpha$ -amilase de larvas

de *C. maculatus*, *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) e *Tenebrio molitor* (Fabricius) (Coleoptera: Tenebrionidae) (NASCIMENTO et al., 2011).

Outra planta reconhecidamente com atividade inseticida é *Azadirachta indica* A. Juss, uma árvore milenar, nativa da Índia, conhecida popularmente como nim (MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005). A partir dessa Meliaceae muitos componentes ativos podem ser isolados, como salanina, meliantrol, gedunina, nimbolina, nimbinem, dacetilsalanina; mas o tetranortriterpenoide azadiractina é o composto com maior atividade biológica, sendo encontrado no extrato ou óleo das sementes de nim (DEPIERI & MARTINEZ, 2010). As sementes de nim contêm cerca de 0,2 a 0,6% em peso de azadiractina (ISMAN, 2006).

A azadiractina em nível fisiológico interfere na síntese e liberação de hormônios (ecdisteroides) da glândula protorácica, levando a ecdise incompleta em insetos imaturos (ISMAN, 2006). Em insetos adultos do sexo feminino, um mecanismo de ação semelhante leva à esterilidade (ISMAN, 2006). Além disso, a azadiractina apresenta efeito antialimentar para uma ampla gama de insetos (LEY et al., 2008).

Na cafeicultura, os efeitos somados da repelência de oviposição e da ação ovicida do óleo de nim, culminaram com 77,0 e 89,0% de redução do número de lagartas eclodidas de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae), quando soluções de óleo emulsionável de nim a 0,125% v v<sup>-1</sup> e 0,25% v v<sup>-1</sup>, respectivamente, foram pulverizadas sobre as folhas de cafeeiro (MARTINEZ & MENEGUIM, 2003). Outra praga da cafeicultura, cujos extratos de folhas, sementes e óleo de torta de nim apresentam potencial como método alternativo de controle, é o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) (MOURÃO et al., 2004). Além dessas pragas, a pulverização do óleo emulsionável de nim e de extratos de folhas e sementes de nim causaram a mortalidade da broca-do-café tanto em testes de toxicidade por ingestão quanto por contato, bem como repelência, resultando em níveis mais baixos de penetração dessa praga nos frutos de café (DEPIERI & MARTINEZ, 2010).

#### 1.2.3.4 Controle biológico

Outra estratégia de controle de insetos-praga dentro do Manejo Fitossanitário é o controle biológico. Esse pode ser definido como a regulação natural do número de indivíduos de uma população de uma espécie-praga através da ação de inimigos naturais cujos indivíduos apresentam hábitos de predação, parasitismo, antagonismo ou patogenia. Esses 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 parasitoides e os fungos entomopatogênicos (FORNAZIER et al., 2007). Dentre os parasitoides os mais importantes são os de origem africana, *Prorops nasuta* (Waterston) (Hymenoptera: Bethilidae), introduzidos nas principais áreas produtoras do Continente Americano, na Indonésia e na Índia (INFANTE et al., 2003); *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethylidae), de grande eficiência na regulação desta praga (LACHAUD et al., 2002); *Heterospilus coffeicola* Schneiderknecht (Hymenoptera: Braconidae) e *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), também introduzidos no Brasil e demais áreas produtoras das Américas (CASTILLO et al., 2004).

Entre os fungos entomopatogênicos, *B. bassiana* tem demonstrado potencial de controle da broca-do-café, sendo de ocorrência natural em muitas regiões do país (BUSTILLO PARDEY, 2005). Esses fungos são patógenos de largo espectros, 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., 2008).

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. Essa doença causava terríveis prejuízos aos produtores de seda devido à epizootias nas criações de bicho-da-seda, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) (REHNER & BUCKLEY, 2005).

Comumente encontrado no solo, esse fungo entomopatogênico 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., 2008). 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., 2008).

Para iniciar o processo de infecção, os conídios devem entrar em contato com a cutícula ou serem ingeridos pelo inseto (ALVES et al., 2008). 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, seguido 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, os quais poderão disseminar e contaminar outros indivíduos (ALVES, 1998).

Devido à alta capacidade do fungo *B. bassiana* em causar a doença em populações da broca-do-café, inúmeros estudos de seleção de isolados têm sido realizados, visando à obtenção de isolados que possam ser formulados no futuro (NEVES & HIROSE, 2005; CRUZ et al., 2006; DALVI et al., 2011). No sul do Estado do Espírito Santo foram coletadas 27 amostras de *H. hampei*, das quais foram selecionados 4 isolados, CCA-UFES/Bb-4, Bb-11, Bb-15 e Bb-18, que apresentaram mortalidade confirmada superior a 60% após a pulverização com uma suspensão de  $1 \times 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup> (DALVI et al., 2011). Entretanto, apesar dos levantamentos realizados, no Brasil há apenas uma formulação à base desse fungo registrada para o manejo da broca-do-café. Mundialmente, a formulação e utilização de bioinseticidas

baseados em microrganismos entomopatogênicos vêm crescendo como uma solução efetiva e ecológica, minimizando o impacto provocado pelos inseticidas convencionais (FARIA & WRAIGHT, 2007).

O estudo das propriedades e das técnicas de preparação de agrotóxicos 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 aproximadamente 7,12 bilhões de dólares com inseticidas. A indústria brasileira de agrotóxicos passou à liderança mundial do setor em 2008, superando os Estados Unidos, constituindo uma grande fonte de divisas do país (ANVISA, 2014b). Todavia, praticamente toda tecnologia existente pertence à companhias multinacionais. Deste modo, o desenvolvimento de tecnologias próprias é importante, principalmente quando se considera a vitalidade do mercado mundial de agrotóxicos.

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, esse trabalho teve como objetivos: (1) avaliar e aprimorar metodologias de criação da broca-do-café; (2) avaliar a utilização de óleos vegetais, óleos minerais, o inseticida contendo azadiractina (ICA) e os derivados da mamona; e (3) verificar a compatibilidade *in vivo* entre o óleo de mamona e o fungo *B. bassiana*, visando ao manejo de *H. hampei*.

### 1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR-MENEZES, E. DE L. **Controle Biológico de Pragas: Princípios e Estratégias de Aplicação em Ecossistemas Agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003.

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, 1998.

ALVES, F.R.; 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: JESUS JUNIOR, W.C. DE; POLANCZYK, R.A.; PRATISSOLI, D.; PEZZOPANE, J.E.M.; SANTIAGO, T. **Atualidades em defesa fitossanitária**. Alegre: UFES, Centro de Ciências Agrárias, 2007.

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, 2008.

ALVES, D.T.; VASCONCELOS, I.M.; OLIVEIRA, J. T. A., FARIAS, L. R., DIAS, S. C., CHIARELLO, M. D., MARIA-NETO, S.; FRANCO, O.L. Identification of four novel members of kunitz-like  $\alpha$ -amylase inhibitors family from *Delonix regia* with activity toward coleopteran insects. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Massachusetts, v.95, n.3, p.166-172. 2009.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Resolução-RDC Nº 28: Regulamento técnico para o ingrediente ativo endossulfam em decorrência da reavaliação toxicológica**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4af12d80474591dd9a38de3fbc4c6735/Decis%C3%A3o.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 12 jul. 2014a.

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](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/07ee7e0041d81501a0d9f5255d42da10/estudo_monitoramento.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 13 jul. 2014b.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, P.D.; FURQUIM, K.C.S.; GILBERTO, O.C.B.; CLARO NETO, S.; BECHARA, G.H.; SAMPIERI, B.R.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effects of *Ricinus communis* oil esters on salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, Berlin, v.127, n.2, p.569-574. 2011a.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, P.D.; FURQUIM, K.C.S.; CHIERICE, G.O.; BECHARA, G.H.; CALLIGARIS, I.B.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effects of ricinoleic acid esters from castor oil of *Ricinus communis* on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. **Experimental Parasitology**, Berlin, v.127, n.2, p.575-580. 2011b.

ASSIS JUNIOR, E.M.D.; FERNANDES, I.M.D.S.; SANTOS, C.S.; MESQUITA, L.X.D.; PEREIRA, R.A.; MARACAJÁ, P.B.; SOTO-BLANCO, B. Toxicity of castor bean (*Ricinus communis*) pollen to honeybees. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Zurich, v.141, n.1-2, p.221-223. 2011.

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.

BALDWIN, B.S.; COSSAR, R.D. Castor yield in response to planting date at four locations in the south-central United States. **Industrial Crops and Products**, St Martin d'Herès, v.29, n.2-3, p.316-319. 2009.

BATISTA, L.R.; CHALFOUN, S.M.; PRADO, G.; SCHWAN, R.F.; WHEALS, A.E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.85, n.3, p.293-300. 2003.

BESTETE, L.R.; PRATISSOLI, D.; QUEIROZ, V.T. DE; CELESTINO, F.N.; MACHADO, L.C. Toxicidade de óleo de mamona a *Helicoverpa zea* e a

*Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.8, p.791-797. 2011.

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.

BIGI, M.F.M.A.; TORKOMIAN, V.L.V.; GROOTE, S.T.C.S.; HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, Malden, v.60, n.9, p.933-938. 2004.

BRADBERRY, S.M.; DICKERS, K.J.; RICE, P.; GRIFFITHS, G.D.; VALE, J.A. Ricin poisoning. **Toxicological Reviews**, Denver, v.22, n.1, p.65-70. 2003.

BRUN, L.O.; GAUDICHON, V.; WIGLEY, P.J.; ORSTOM, B. An artificial diet for the continuous rearing of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Insect Science and its Applications**, Nairobi, v.14, n.5-6, p.586-587. 1993.

BUSTILLO A.E.; OROZCO, J.; BENAVIDES, P.; PORTILLA, M. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. **Cenicafé**, Manizales, v.47, n.4, p.215-230. 1996.

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 Entomología**, Bogotá, v.32, n.2, p.101-116. 2006.

CARRIÓN, G.; BONET, A. Mycobiota associated with the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and its galleries in fruit. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.97, n.3, p.492-499. 2004.

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.

CÉSAR, A.S.; BATALHA, M.O. Biodiesel production from castor oil in Brazil: a difficult reality. **Energy Policy**, Chattanooga, v.38, n.8, p.4031-4039. 2010.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Série Histórica de Produção**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=>>. Acesso em: 12 jul. 2014.

CONSTANTINO, L.M.; NAVARRO, L.; BERRIO, A.; ACEVEDO, F.E.; RUBIO, D.; BENAVIDES, P. Aspectos biológicos, morfológicos y genéticos de *Hypothenemus obscurus* e *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v.37, n.2, p.173-182. 2011.

CORY, J.S.; ERICSSON, J.D. Fungal entomopathogens in a tritrophic context. **BioControl**, Delémont, v.55, n.1, p.75-88. 2010.

CRUZ, L.P.; GAITAN, A.L.; GONGORA, C.E. Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Münster, v.71, n.6, p.918-926. 2006.

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.; PRATISSOLI, D.; POLANCZY, R.A.; ANDRADE, G.S. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) for the control of

the coffee borer beetle *Hypothenemus hampei* (Scolytinae) in Brazil. **Biological Letters**, Poznań, v.48, n.1, p.39-46. 2011.

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.

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.

EL-WAKEIL, N.E. Botanical Pesticides and Their Mode of Action. **Gesunde Pflanzen**, Heidelberg, v.65, n.4, p.125-149. 2013.

FAIRTRADE FOUNDATION. **Fairtrade and Coffee: Commodity Briefing**. London: Fairtrade Foundation, 2012. Disponível em: <[http://www.fairtrade.net/fileadmin/user\\_upload/content/2009/resources/2012\\_Fairtrade\\_and\\_coffee\\_Briefing.pdf](http://www.fairtrade.net/fileadmin/user_upload/content/2009/resources/2012_Fairtrade_and_coffee_Briefing.pdf)>. Acesso em: 12 jul. 2014.

FARIA, M.R. de; WRAIGHT, S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, San Diego, v.43, n.3, p.237-256. 2007.

FERNANDES, E.T.; FAVERO, S. Óleo essencial de *Schinus molle* L. para o controle de *Sitophilus zeamais* Most.1855 (Coleoptera:Curculionidae) em milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.9, n.1, p.225-231. 2014.

FERRAZ, A.C.; ANGELUCCI, M.E.M.; COSTA, M.L.; BATISTA, I.R.; OLIVEIRA, B.H.; CUNHA, C. Pharmacological evaluation of ricinine, a central nervous system stimulant isolated from *Ricinus communis*. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, California, v.63, n.3, p.367-375. 1999.

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.

GAMA, F.C.; TEIXEIRA, C.A.D.; GARCIA, A.; COSTA, J.N.M.; LIMA, D.K.S. Diversidade de Fungos Filamentosos Associados a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) e suas Galerias em Frutos de *Coffea canephora* (Pierre). **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.35, n.5, p.573-578. 2006.

GANDHI, V.M.; CHERIAN, K.M.; MULKY, M.J. Detoxification of castor seed meal by interaction with sal seed meal. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Madison, v.71, n.8, p.827-831. 1994.

GOETTEL M.S., J.D. VANDENBERG, G.M. DUKE & G.B. SCHAALJE. Susceptibility to chalkbrood of alfalfa leafcutter bees, *Megachile rotundata*, reared on natural and artificial provisions. **Journal of Invertebrate Pathology**, Marceline, v.61, n.1, p.58-61. 1993.

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: parasitoides e predadores**. Piracicaba: Manole, 2002.

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

HIROSE, E.; NEVES P. M.O.J. Técnica para criação e manutenção da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.31, n.1, p.161-164. 2002.

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.

INFANTE, F.; MURPHY, S.T.; BARRERA, J.F.; GÓMEZ, J.W.; DAMON, A. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoide de la broca del café y algunas notas sobre su historia de vida. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v.19, n.3, p. 313-315. 1994.

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.

JAMES, A.T.; HADAWAY, H.C.; WEBB, J.P.W. The biosynthesis of ricinoleic acid. **Biochemical Journal**, London, v.95, n.2, p.448-452. 1965.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; KAMONJO, C.; JARAMILLO, A.; VEGA, F.E.; POEHLING, H.-M.; BORGEMEISTER, C. Thermal Tolerance of the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei*: Predictions of Climate Change Impact on a Tropical Insect Pest. **PLoS ONE**, San Francisco, v.4, n.8, p.e6487. 2009a.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; POEHLING, H.-M.; KAMONJO, C.; BORGEMEISTER, C. Development of an improved laboratory production technique for the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, using fresh coffee berries. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.130, n.3, p.275-281. 2009b.

KANG, S.S.; GORDELL, G.A.; SOEJARTO, D.D.; FONG, H.D.S. Alkaloids and flavoids from *Ricinus communis*. **Journal of Natural Products**, Columbus, v.48, n.1, p.155-156. 1985.

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.

LEITE, A.C.; CABRAL, E.C.; SANTOS, D.A.; FERNANDES, J.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F. Isolamento do alcaloide ricinina das folhas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) através de cromatografias em contracorrente. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.6, p.983-985. 2005.

LEY, S.V.; ABAD-SOMOVILLA, A.; ANDERSON, J.C.; AYATS, C.; BÄNTELI, R.; BECKMANN, E.; BOYER, A.; BRASCA, M.G.; BRICE, A.; BROUGHTON, H.B.; BURKE, B.J.; CLEATOR, E.; CRAIG, D.; DENHOLM, A.A.; DENTON, R.M.; DURAND-REVILLE, T.; GOBBI, L.B.; GÖBEL, M.; GRAY, B.L.; GROSSMANN, R.B.; GUTTERIDGE, C.E.; HAHN, N.; HARDING, S.L.; JENNENS, D.C.; JENNENS, L.; LOVELL, P.J.; LOVELL, H.J.; DE LA PUENTE, M.L.; KOLB, H.C.; KOOT, W.-J.; MASLEN, S.L.; MCCUSKER, C.F.; MATTES, A.; PAPE, A.R.; PINTO, A.; SANTAFIANOS, D.; SCOTT, J.S.; SMITH, S.C.; SOMERS, A.Q.; SPILLING, C.D.; STELZER, F.; TOOGOOD, P.L.; TURNER, R.M.; VEITCH, G.E.; WOOD, A.; ZUMBRUNN, C. The synthesis of azadirachtin: A potent insect antifeedant. **Chemistry - A European Journal**, Stockholm, v.14, n.34, p.10683-10704. 2008.

MAIA, M.O.; QUEIROGA, R.C.R.E.; MEDEIROS, A.N.; COSTA, R.G.; BOMFIM, M.A.D.; FERNANDES, M.F. Consumo, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de cabras mestiças Moxotó suplementadas com óleos de licuri ou mamona. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.1, p.149-155. 2010.

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.

MARTINEZ, S.S.; MENEGUIM, A.M. Redução da oviposição e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* causadas pelo óleo emulsionável de nim. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, Turrialba, v.67, p.58-62. 2003.

MAWUSSI, G.; TOUNOU, A.K.; AYISAH, K.D.; VILAREM, G.; RAYNAUD, C. MERLINA, G.; WEGBE, K.; SANDA, K. Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Ocimum canum* Essential Oil Against Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, Prem Nagar, v.15, n.6, p.955-963. 2012.

MEHRABADI, M., BANDANI, A. R., SAADATI, F., & MAHMUDVAND, M.  $\alpha$ -Amylase activity of stored products insects and its inhibition by medicinal plant extracts. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v.13, suplementar, p.1173-1182. 2011.

MENDESIL, E.; TADESSE, M.; NEGASH, M. Efficacy of plant essential oils against two major insect pests of coffee (Coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, and antestia bug, *Antestiopsis intricata*) and maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, Pausa, v.45, n.3, p.366-372. 2012.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M.B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science - Cell Press**, Cambridge, v.19, n.1, p.29-35. 2014.

MORALES-RAMOS, J.A.; ROJAS, M.G.; SITTERTZ, B.H.; G. SALDAÑA. Symbiotic relationship between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.93, n.3, p.541-547. 2000.

MOSSINI, S.A.G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v.24, n.1, p.139-148. 2005.

MOURÃO, S.A.; ZANUNCIO, J.C.; PALLINI FILHO, A.; GUEDES, R.N.C.; CAMARGOS, A.B. DE. Toxicidade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.8, p.827-830. 2004.

NASCIMENTO, V.V. DO; CASTRO, H.C.; ABREU, P.A.; ELENIR, A.; OLIVEIRA, A.; FERNANDEZ, J.H.; SILVA ARAÚJO, J. DA; MACHADO, O.L.T. In silico structural characteristics and  $\alpha$ -amylase inhibitory properties of Ric c 1 and Ric c 3, allergenic

2S albumins from *Ricinus communis* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.59, n.9, p.4814-4821. 2011.

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). **Exporting Countries: Total Production**. Disponível em: <[http://www.ico.org/pt/new\\_historical\\_p.asp?section=Estat%EDstica](http://www.ico.org/pt/new_historical_p.asp?section=Estat%EDstica)>. Acesso em: 11 jul. 2014.

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

PAULIQUEVIS, C.F.; CONTE, C. de O.; FAVERO, S. Atividade insetistática do óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. Sobre *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.8, n.3, p.39-45. 2013.

PÉREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E. HOLGUÍN, F.; MACIAS, J.; VALLE, J.; NIETO, G.; PETERSON, S.W.; KURTZMAN, C.P.; O'DONNELL, K. Mycobiota associated with the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. **Mycological Research**, Manchester, v.107, n.7, p.879-887. 2003.

PÉREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E. Does the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) have mutualistic fungi? **Annals of the Entomological Society of America**, Annapolis, v.98, n.4, p.483-490. 2005.

PÉREZ, Y. O.; ZAYAS, D.V.; VILLA, O.V.; PUENTES, R.A.; GARCÍA, S.T. Aplicación de extractos de hojas de *Ricinus communis* L. en el control de la Broca del café. **Centro Agrícola**, Villa Clara, v.39, n.1, p.85-90. 2012.

PETERSON, S.W.; PÉREZ, J.; VEGA, F.E.; INFANTE, F. *Penicillium brocae*, a new species associated with the coffee berry borer in Chiapas, Mexico. **Mycologia**, Corvallis, v.95, n.1, p.141-147. 2003.

PORTILLA, M.; STREETT, D. Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de *Hypothenemus hampei* sobre la dieta artificial Cenibroca modificada. **Cenicafé**, Manizales, v.57, n.1, p.37-50. 2006.

RAMOS-LÓPEZ, M.A.; PÉREZ G.S.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, C.; GUEVARA-FEFER, P.; ZAVALA-SÁNCHEZ, M.A. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, Bowie, v.9, n.9, p.1359-1365. 2010.

RANA, M.; DHAMIJA, H.; PRASHAR, B.; SHARMA, S. *Ricinus communis* L. – A Review. **International Journal of PharmTech Research**, Akola Area, v.4, n.4, p.1706-1711. 2012.

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.

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.

ROJAS, M.G.; MORALES-RAMOS, J.A.; HARRINGTON, T.C. Association between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.92, n.1, p.98-100. 1999.

RONDELLI, V.M.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MARQUES, E.J.; STURM, G.M.; TIBURCIO, M.O. Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no controle da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.2, p.212-214. 2011.

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.

SAMPIERI, B.R.; ARNOSTI, A.; FURQUIM, K.C.S.; CHIERICE, G.O.; BECHARA, G.H.; CARVALHO, P.L.P.F. DE; NUNES, P.H.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effect of ricinoleic acid esters from castor oil (*Ricinus communis*) on the oocyte yolk components of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, Dublin, v.191, n.3-4, p.315-322. 2013.

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.; 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*). **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v.33, n.2, p.319-324. 2010.

SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; SILVA, A.G.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; FACUNDO, V.A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.4, p.757-762. 2013.

SHIKANOA, I.; ERICSSON, J.D.; CORY, J.S.; MYERS, J.H. Indirect plant-mediated effects on insect immunity and disease resistance in a tritrophic system. **Basic and Applied Ecology**, Gottingen, v.11, n.1, p.15-22. 2010.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; SILVA, R.A.; TOLEDO, M.A. DE. Cafeicultor: saiba como monitorar e controlar a broca-do-café com eficiência. **Circular Técnica nº178**, Belo Horizonte: EPAMIG, 3p. 2013.

TANIWAKI, M.H., J.I. PITT, A.A. TEIXEIRA & B.T. IAMANAKA. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.82, n.2, p.173-179. 2003.

TEFERA, T.; PRINGLE, K.L. Food consumption by *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae infected with *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and

effects of feeding natural versus artificial diets on mortality and mycosis. **Journal of Invertebrate Pathology**, Marceline, v.84, n.3, p.220-225. 2003.

TOUNOU, A.K.; GBÉNONCHI, M.; SADATE, A.; KOMI, A.; DIEUDONNÉ, G.Y.M.; KOMLA, S. Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. **Journal of Applied Biosciences**, Grahamstown, v.43, n.3, p.2899-2914. 2011.

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.; BENAVIDES, P.; STUART, J.; O'NEILL, S. L. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Annapolis, v.95, n.3, p.374-378. 2002.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, Washington, v.2, n.2, p.129-147. 2009.

VEGA, F.E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; KRAMER, M.; LAND, M.F. On the Eyes of Male Coffee Berry Borers as Rudimentary Organs. **PLoS ONE**, San Francisco, v.9, n.1, p.e85860. 2014.

VELMOUROUGANE, K.; BHAT, R.; GOPINANDHAN. T.N. Impact of Drying Surface and Raking Frequencies on Mold Incidence, Ochratoxin A Contamination, and Cup Quality During Preparation of Arabica and Robusta Cherries at the Farm Level. **Foodborne Pathogens and Disease**, Knoxville, v.7, n.11, p.1435-1440. 2010.

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: parasitoides 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.

VILLACORTA, A.; BARRERA, J.F. Nova dieta meridica para criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.22, n.2, p.405-409. 1993.

ZORZETTI, J.; NEVES, P.M.O.J.; CONSTANSKI, K.C.; SANTORO, P.H.; FONSECA, I.C.B. Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, suplemento 1, p.2849-2862. 2012.

## 2 CAPÍTULO II

### ADAPTAÇÃO DE TÉCNICAS DE CRIAÇÃO DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)

#### RESUMO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), é um dos principais obstáculos à cafeicultura mundial. Portanto, para que pesquisas possam ser desenvolvidas com essa praga é necessário o estudo de técnicas de criação adequada, visando à produção de insetos em quantidade e com qualidade. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar técnicas de criação da broca-do-café, utilizando diferentes cafés, bem como as formas de assepsia e conseqüentemente o armazenamento, visando facilitar a execução e comparação dos dados de pesquisas com essa praga. Para isso, foi avaliado o número de descendentes produzidos utilizando-se o café arábica em coco, o café arábica pergaminho e o café robusta em coco. Para a assepsia desses cafés usou-se o produto comercial à base de  $P_2O_5$  (PCB- $P_2O_5$ , 30 mL/20 L de água), o Hipoclorito de Sódio ( $NaClO$ , 5% v v<sup>-1</sup>) e a água destilada (controle), sendo esses separados em dois lotes após o processo assepsia, um utilizado imediatamente e o outro armazenado em freezer a -20 °C por 60 dias para posterior utilização. O café robusta sem o processo de assepsia (controle) foi o melhor para a criação da broca-do-café e produziu 464,2 insetos, além de ser menos oneroso. Para o café arábica em coco e o pergaminho recomenda-se o processo de assepsia com  $NaClO$  e PCB- $P_2O_5$ , respectivamente. O armazenamento do café em freezer a -20 °C por 60 dias após o processo de assepsia não é recomendado para nenhum dos cafés utilizados na criação. A melhor técnica para criação da broca-do-café é em café robusta em coco, sem a necessidade de qualquer processo de assepsia, podendo esse ser armazenado em freezer a -20 °C para ser utilizado durante a entressafra.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, Assepsia, Armazenamento do café.

**ADAPTATION OF TECHNIQUE FOR REARING OF THE COFFEE BERRY  
BORER, *Hypothenemus hampei* (FERRARI)**

**ABSTRACT**

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) is a major obstacle to world coffee production. Therefore, so that researches can be developed with this pest is necessary to study techniques of rearing adequate, aimed at producing insects in quantity and with quality. Thus, the objective of this study was to evaluate techniques of rearing of the coffee berry borer, using different coffees, as well as forms of asepsis and the storage, aimed to facilitate the execution and comparison of research data with this pest. For this, the number of offspring produced were evaluated using arabica coffee beans, arabica coffee parchment and robusta coffee beans. For the asepsis of these coffees was used a commercial product the P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-based (PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 30 mL/20 L water), Sodium Hypochlorite (NaClO 5% v v<sup>-1</sup>) and distilled water (control), these separated in two batches after the asepsis process, one used immediately and the other stored at -20 °C for 60 days for further use. Robusta coffee beans without the asepsis process (control) was the best for the rearing of the coffee berry borer and produced 464.2 insects, beyond this being the cheapest. For the arabica coffee beans and the parchment, it is recommended the process of asepsis with NaClO and PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, respectively. The coffee storage in freezer at -20 °C for 60 days after the process of asepsis is not recommended for any of the cafes used in rearing. The best technique for rearing of the coffee berry borer is in robust coffee beans, without any process of asepsis, which can be stored in freezer at -20 °C for use during the off season.

Keywords: *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, Asepsis, Coffee storage.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os danos causados pela broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), vêm sendo um dos principais obstáculos à cafeicultura mundial (MESSING, 2012). Devido aos danos quantitativos e qualitativos provocados por essa praga, os prejuízos econômicos à cultura chegam a afetar a economia de mais de 25 milhões de pequenos agricultores no mundo (FAIRTRADE FOUNDATION, 2013).

Para que estudos possam ser desenvolvidos com a broca-do-café é necessário o aprimoramento de uma técnica de criação adequada, visando à produção de insetos em quantidade e com qualidade (BUSTILLO et al., 1996). O sucesso da criação massal de *H. hampei* é dependente, principalmente, do controle da umidade e da temperatura em cada etapa, da manutenção diária das condições de assepsia do laboratório e da obtenção de insetos saudáveis que possibilitem a realização de estudos científicos (BUSTILLO et al., 1996). Pesquisas mencionam técnicas que são utilizadas para criação da broca-do-café, tais como: dietas artificiais (BRUN et al. 1993, VILLACORTA & BARRERA, 1993; CONSTANTINO et al., 2011), café cereja (INFANTE et al., 1994; HIROSE & NEVES, 2002; JARAMILLO et al., 2009) e café pergaminho (BUSTILLO et al., 1996).

A criação em dietas artificiais, apesar de apresentar algumas vantagens como ocupar menor espaço físico e produzir maior número de insetos, também apresenta alguns problemas sanitários que exigem cuidados para evitar a contaminação da dieta, sendo necessários mão de obra especializada e laboratório com maior infraestrutura (HIROSE & NEVES, 2002). De acordo com Portilla & Streett (2006) as dietas artificiais existentes para a broca-do-café afetam negativamente a fecundidade e a razão sexual. Além disso, estudos com fungos entomopatogênicos podem ser comprometidos, pois essas dietas interferem no sistema imunológico do hospedeiro e na germinação dos conídios (HIROSE & NEVES, 2002; CORY & ERICSSON, 2010; SHIKANO et al., 2010).

Quando se utiliza o café cereja ou o pergaminho do café como alimento, o principal problema é a contaminação por microrganismos que dificulta manuseio, visto que

mais de 50 espécies de fungos ocorrem associados a *H. hampei* e suas galerias, e muitos desses são tóxicos ao homem (PÉREZ et al., 2003; PETERSON et al., 2003; CARRIÓN & BONET, 2004; GAMA et al., 2006). Dentre os microrganismos, algumas espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são contaminantes toxigênicos do café e produzem a micotoxina (ochratoxina A), considerada um problema grave para a saúde humana e para a indústria de café (BATISTA et al., 2003; TANIWAKI et al., 2003; VELMOUROUGANE et al., 2010). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar metodologias de criação da broca-do-café utilizando diferentes cafés, bem como processos de assepsia e o armazenamento após esses processos, visando disponibilizar uma técnica que facilite as pesquisas e o desenvolvimento de programas de manejo fitossanitário dessa praga.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado 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.

### 2.2.1 Criação e manutenção de *H. hampei*

A criação e manutenção da broca-do-café foram realizadas em sala climatizada à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa (UR) de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h. Para isso, foram coletados a campo frutos de café brocados de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner no município de Jerônimo Monteiro - ES (latitude:  $-20^{\circ} 47' 22''$  e longitude:  $-41^{\circ} 23' 42''$ ). Posteriormente, foram lavados com solução de Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 5% v v<sup>-1</sup> utilizando água como solvente para evitar a proliferação de eventuais contaminantes. Em seguida, foram enxaguados em água corrente e expostos em ambiente ventilado, sem exposição direta à luz solar, por 24 horas. Os

frutos brocados foram acondicionados em caixas plásticas (15 x 30 x 5 cm) com tampa. Para possibilitar as trocas gasosas, nas tampas foram feitas aberturas vedadas com tecido “voal”. 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, se deslocassem para a extremidade livre para coleta. A coleta dos insetos foi feita com succionador de insetos pequenos adaptado a uma bomba-de-vácuo.

Para a continuação da criação, os insetos coletados foram colocados em contato com grãos sadios de café em pergaminho na proporção de uma broca por grão, em recipientes plásticos do tipo gerbox<sup>®</sup> quadrado (10 x 10 x 4 cm) com tampa. Estes recipientes continham 200 grãos de café, da espécie *Coffea arabica* L., previamente lavado com NaClO a 5% v v<sup>-1</sup> por 1 minuto e enxaguados em água corrente. Os recipientes foram tampados com tecidos pretos para proporcionar condições adequadas para reprodução. Periodicamente, foi borrifada água destilada para a manutenção da umidade dos grãos (45%).

### **2.2.2 Adaptações das técnicas de criação da broca-do-café**

As metodologias utilizadas como base para esta pesquisa foram as propostas por Bustillo et al. (1996), Hirose & Neves (2002) e Pérez et al. (2005). Sendo assim, foram utilizados os cafés arábica em coco, arábica pergaminho e robusta em coco como alimento para a broca-do-café. Previamente, os frutos de café foram selecionados em relação à presença ou ausência de broca-do-café, para assegurar a isenção do inseto no lote empregado no bioensaio. Para a assepsia dos grãos foram utilizados o NaClO a 5% v v<sup>-1</sup> (2,0 a 2,5% de cloro ativo; Empresa: Indústria Anhembi S/A, Osasco, SP), produto comercial a base de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 30 mL/20 L de água) (Super17<sup>®</sup> - 5,0% p p<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> solúvel em água; Empresa: SULPHUR TEC - Indústria, Comércio, Importação e Exportação LTDA; Orlandia, SP), bem como a água destilada (controle). Os grãos foram colocados em solução por 24 h; após este período foram lavados em água corrente e colocados para secar à sombra por 36 h, para que atingissem umidade de aproximadamente 45%. Após o processo

de assepsia, foram separados dois lotes dos cafés, sendo um utilizado imediatamente no bioensaio e o outro armazenado em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 60 dias para posterior utilização em um novo bioensaio.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial triplo  $3 \times 3 \times 2$  (Cafés: arábica em coco, arábica pergaminho e robusta em coco x Assepsia: NaClO, PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$ , controle x Armazenamento: uso imediato e após armazenamento em Freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 60 dias) com 5 repetições. As repetições foram constituídas de recipientes plásticos do tipo gerbox<sup>®</sup> quadrado  $10 \times 10 \times 4$  cm com tampa, contendo 200 pergaminhos de café arábica ou 100 grãos de café em coco (arábica ou robusta). Para montagem do experimento foram utilizados insetos provenientes da criação, sendo infestados com 50 brocas/gerbox. Os lotes foram identificados e acondicionados em sala climatizada a  $25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h, e cobertos com tecido preto, condição essa necessária para a reprodução desse inseto. Para a manutenção da umidade dos grãos em aproximadamente 45% foi borrifado água destilada periodicamente. A partir do 40º dia iniciou-se a avaliação do número de descendentes produzidos a cada 3 dias até o 70º dia. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. E para a avaliação do número de indivíduos produzidos diariamente foi submetida à análise de regressão, nível de significância do teste foi de 5%.

### 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste bioensaio apresentaram interação tripla entre os cafés, os processos de assepsia e as formas de armazenamento sobre o número de indivíduos da broca-do-café produzidos ( $F_{4;89} = 10,90$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 1).

Entre os cafés que não foram armazenados e sem assepsia, o mais adequado para criação da broca-do-café foi o café robusta em coco, que produziu 464,2 insetos, mas quando foi realizado o processo de assepsia com NaClO, o café arábica e o robusta em coco foram superiores ao café arábica pergaminho (Tabela 1). No caso do processo de assepsia utilizando o PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$  não houve diferença estatística

entre os cafés robusta em coco e arábica pergaminho, produzindo 535,6 e 454,2 brocas, respectivamente (Tabela 1). Quando os cafés foram armazenados por 60 dias em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tanto para o processo de assepsia controle como para o NaClO, o café arábica e robusta em coco foram os melhores para a reprodução da broca-do-café (Tabela 1). No entanto, quando assepsia foi realizada com o PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$ , o café arábica em coco foi o que apresentou maior produção de descendentes da broca-do-café (371,6 brocas) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Total de descendentes obtidos em diferentes metodologias de criação de *Hypothenemus hampei*, a  $25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

Cafés/Assepsia	Armazenamento após 0 dias		
	Controle	NaClO	PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$
Arábica pergaminho	150,2 $\pm$ 12,21 Cc <sup>1</sup>	298,0 $\pm$ 10,31 Bb*	454,2 $\pm$ 38,08 Aa*
Arábica em coco	235,4 $\pm$ 12,32 Bb*	455,8 $\pm$ 4,51 Aa*	269,0 $\pm$ 13,76 Bb*
Robusta em coco	464,2 $\pm$ 15,92 ABa*	405,0 $\pm$ 31,65 Ba	535,6 $\pm$ 48,89 Aa*
Armazenamento após 60 dias			
Arábica pergaminho	94,0 $\pm$ 10,46 ABb	37,8 $\pm$ 8,82 Bb	138,0 $\pm$ 11,30 Ac
Arábica em coco	336,8 $\pm$ 20,82 Aa	352,6 $\pm$ 33,16 Aa	371,6 $\pm$ 25,54 Aa
Robusta em coco	386,6 $\pm$ 30,33 Aa	346,2 $\pm$ 30,86 ABa	275,2 $\pm$ 23,15 Bb

<sup>1</sup>Médias ( $\pm$  EP) seguidas pelas mesmas letras maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

\*Médias diferem entre si, quanto ao armazenamento, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

As diferenças apresentadas no número de indivíduos produzidos em cada café podem estar correlacionadas com a composição química do grão, visto que há variação em função da espécie e até mesmo entre cultivares dentro da própria espécie (CASAL et al., 2000; KY et al., 2001; MENDONÇA et al., 2007; KITZBERGER et al., 2013). Em genótipos de café arábica (*C. arabica*) foram encontrados maiores teores de sacarose e trigonelina comparados aos genótipos de café robusta (*C. canephora*) (KY et al., 2001; CAMPA et al., 2004). No entanto, para cafeína e ácido clorogênico os maiores valores foram encontrados em *C. canephora* (CASAL et al., 2000; KY et al., 2001; RODRIGUES et al., 2007). Além disso, a forma de processamento (seca ou úmida) também pode influenciar nas características químicas do café (LIMA et al., 2008; FERREIRA et al., 2013). Entretanto, em estudo realizado para investigar o papel da cafeína na defesa química do café contra *H. hampei* não foi observada correlação positiva entre resistência e teor de cafeína em

várias espécies de café (GUERREIRO FILHO & MAZZAFERA, 2003). Esses autores também relatam que a atratividade para os insetos não estava diretamente relacionada com o teor de cafeína nos frutos maduros, visto que espécies de café com baixo teor de cafeína também foram colonizadas, porém com menor intensidade.

Um dos principais fatores para o sucesso na criação massal de *H. hampei* é o controle da umidade (BUSTILLO et al., 1996; OROZCO, 2002). Observou-se que o café arábica pergaminho perde mais umidade comparado aos cafés em coco, sendo necessária maior reposição de água para manter a umidade. Essa oscilação da umidade dos grãos é um fator prejudicial na criação, visto que essa deve ser mantida aproximadamente em 45% (HIROSE & NEVES, 2002). Assim, esse é um fator negativo para a criação da broca-do-café utilizando-se o café arábica pergaminho, pois esse café dificulta o manejo da criação e requer maior atenção do responsável pela criação do inseto.

Quando se trata de diferentes cafés para a criação de *H. hampei*, deve-se correlacionar o custo dos diferentes materiais e a eficiência na produção. O café arábica possui maior qualidade e, conseqüente, preço superior ao café robusta; além disso, o processamento do café por via úmida (pergaminho) aumenta a qualidade, resultando em preços ainda mais altos (NISHIJIMA et al., 2012). Assim sendo, o café robusta torna-se a opção mais econômica para a criação da broca-do-café.

Quando se trata da assepsia dos grãos para café robusta em coco sem ser armazenado, os processos de assepsia não diferiram do controle, sendo esse processo desnecessário para esse café (Tabela 1). No entanto, para o café arábica pergaminho sem ser armazenado o melhor processo de assepsia foi utilizando-se o PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (454,2 indivíduos da broca-do-café), pois apresentou maior número de brocas produzidas comparado ao controle e ao NaClO (Tabela 1). Contudo, para o café arábica em coco sem ser armazenado o processo de assepsia utilizando NaClO foi o melhor, visto que esse apresentou uma produção de 455,8 descendentes da broca-do-café, superior aos demais tratamentos (Tabela 1).

Em relação aos cafés que foram armazenados para serem utilizados 60 dias após o processo de assepsia, não houve diferença entre o controle e os demais tratamentos (NaClO e PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) tanto para o café arábica pergaminho quanto para o café arábica em coco. No caso do café robusta em coco isso ocorre apenas para o tratamento com NaClO, uma vez que quando tratado com PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> diferiu-se do controle reduzindo o número de descendentes produzidos. Tais resultados demonstram a ineficiência da realização do processo de assepsia do café antes do armazenamento (Tabela 1).

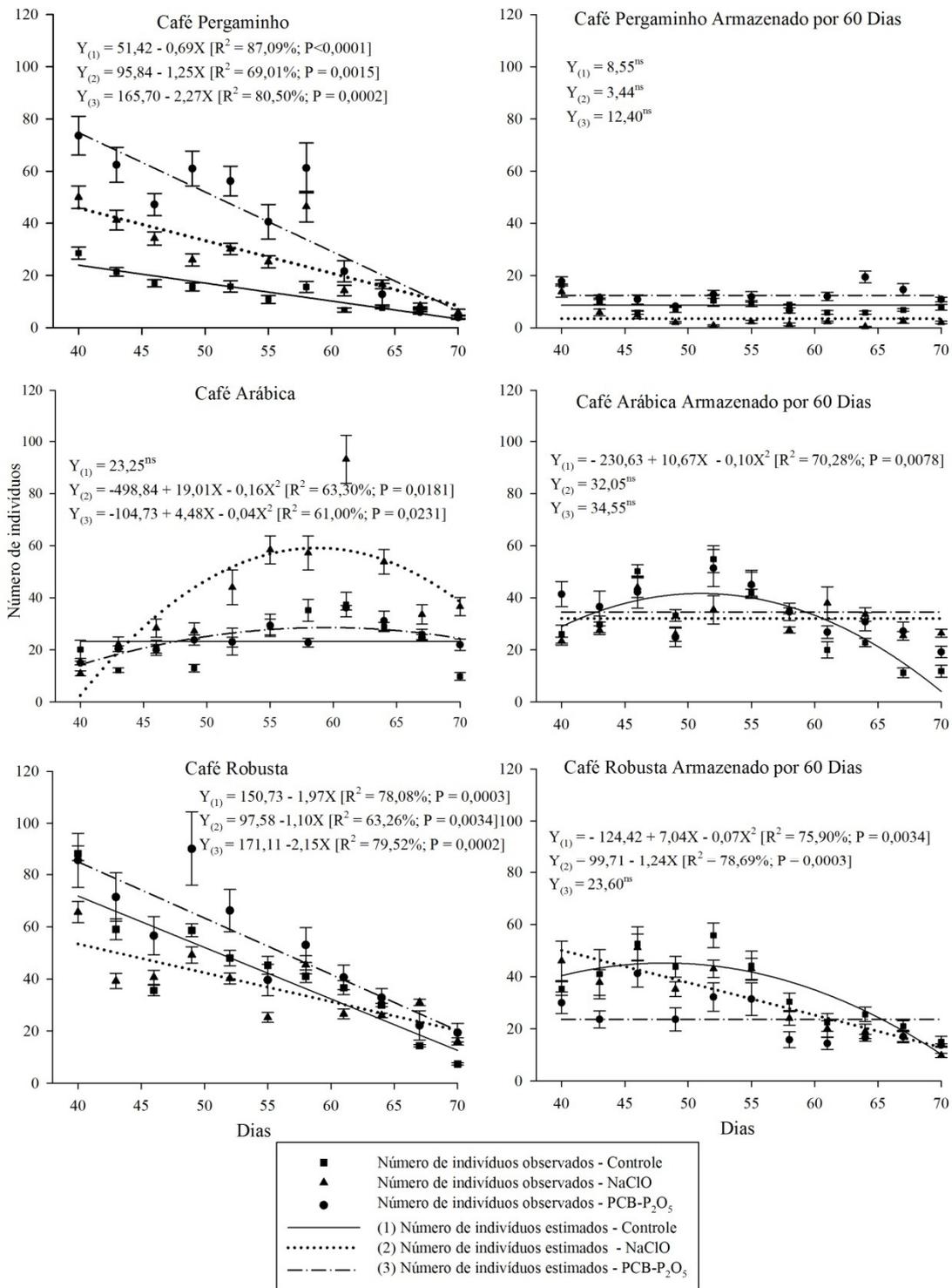
No que diz respeito aos processos de assepsia, existem algumas recomendações, mas não há um comparativo que comprove a eficiência (BUSTILLO et al., 1996; HIROSE & NEVES, 2002; PÉREZ et al., 2005). Bustillo et al. (1996) recomendam a utilização do fungicida tiabendazol 0,3% para a assepsia do café maduro. Hirose & Neves (2002) sugerem que os frutos devem ser mergulhados em solução de NaClO a 5% v v<sup>-1</sup> por um minuto, lavados em água corrente, e colocados para secar à sombra por 48h. Outro processo de assepsia é o proposto por Pérez et al. (2005) onde os frutos de café devem ser lavados com detergente durante 15 minutos, enxaguados com água de torneira e depois mergulhados numa solução de NaClO a 2% p v<sup>-1</sup> durante 10 min, lavados novamente com água destilada estéril, em seguida embebidos em uma solução de sorbato de potássio a 2% p v<sup>-1</sup>, e, finalmente, lavados com água destilada estéril. Assim sendo, a análise da eficiência do processo de assepsia é importante, uma vez que pode variar com o café utilizado na criação da broca-do-café, gerando diferentes recomendações. Além disso, também pode reduzir o custo de produção da criação, pois no caso do café robusta os processos de assepsia não apresentaram resposta positivas quanto ao crescimento populacional dos insetos, não sendo necessária a utilização.

Com relação ao armazenamento dos cafés sem o processo de assepsia (controle), não houve diferença entre o café arábica pergaminho armazenado ou não após 60 dias em freezer a -20 °C (Tabela 1). Entretanto, o café arábica em coco armazenado por 60 dias após o processo de assepsia apresentou maior produção de descendentes da broca-do-café (336,8 brocas), comparado ao não armazenado (Tabela 1). Contudo, o inverso foi constatado para o café robusta em coco, o qual apresentou maior número de brocas produzidas quando não foi armazenado por 60 dias em freezer a -20 °C após o processo de assepsia (464,2 brocas) (Tabela 1).

Quando esses cafés foram submetidos à assepsia com NaClO, o armazenamento em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  reduziu o número de brocas produzidas pelo café arábica em coco e pergaminho, mas não afetou a produção em café robusta em coco (Tabela 1). Utilizando-se o PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$  no processo de assepsia, o armazenamento por 60 dias em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  após o processo de assepsia reduziu o número de descendentes da broca-do-café em café arábica pergaminho e robusta em coco; contudo, o café arábica em coco apresentou resposta inversa (Tabela 1). O armazenamento do café em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  é um processo que onera o custo de criação da broca-do-café; contudo, é necessário durante a entressafra para garantir a criação da broca-do-café.

O café arábica pergaminho, tanto sem assepsia (controle) quanto para o que foi realizado o processo de assepsia com NaClO ou PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$ , apresentou o número de brocas produzidas diariamente ajustando-se ao modelo linear ( $R^2 = 87,09\%$  e  $P < 0,0001$ ;  $R^2 = 69,01\%$  e  $P = 0,0015$ ;  $R^2 = 80,05\%$  e  $P = 0,0002$ , respectivamente), ou seja, há uma redução do número de brocas produzidas a partir da data inicial de avaliação (40º dia) até a data final (70º dia) (Figura 1). Entretanto, quando o café arábica pergaminho foi armazenado por 60 dias em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  nenhum dos processos de assepsia ajustou-se a um modelo, apresentando uma produção de broca-do-café constante ao longo do tempo (Figura 1).

O café arábica em coco tratado com água destilada (controle) manteve uma produção de brocas constante ao longo do tempo (Figura 1). Tal fato não ocorreu quando esse foi armazenado por 60 dias em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , onde se ajustou a um modelo quadrático ( $R^2 = 70,28\%$  e  $P = 0,0078$ ), sendo as maiores produções de brocas entre o 46º e o 55º dias de avaliação (Figura 1). Para o café arábica em coco, no qual foi utilizado o processo de assepsia com NaClO e PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$ , a produção de brocas ajustou-se ao modelo quadrático ( $R^2 = 63,30\%$  e  $P = 0,0181$ ;  $R^2 = 61,00\%$  e  $P = 0,0231$ , respectivamente), havendo um pico de produção entre o 55º e o 64º dias de avaliação (Figura 1). No entanto, quando esses cafés foram armazenados por 60 dias em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a produção de brocas manteve-se constante ao longo do tempo (Figura 1).



**Figura 1.** Produção diária de descendentes de *Hypothenemus hampei* obtidos em diferentes metodologias de criação, a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h. <sup>ns</sup>Não significativo; Hipoclorito de Sódio (NaClO); produto comercial a base de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – Super 17<sup>®</sup> (PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

O número de descendentes da broca-do-café produzidos em café robusta em coco após o processo de assepsia controle NaClO e PCB-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ajustou-se ao modelo

linear ( $R^2 = 78,08\%$  e  $P = 0,0003$ ;  $R^2 = 63,26\%$  e  $P = 0,0034$ ;  $R^2 = 79,52\%$  e  $P = 0,0002$ , respectivamente), apresentando redução do número de brocas produzidas ao longo do tempo (Figura 1). Contudo, esse café, após ser armazenado por 60 dias em freezer a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  posteriormente aos processos de assepsia com água destilada (controle) e NaClO, ajustou-se ao modelo quadrático e linear, respectivamente ( $R^2 = 75,90\%$  e  $P = 0,0034$ ;  $R^2 = 78,69\%$  e  $P = 0,0003$ ) (Figura 1). Enquanto que o café robusta em coco, no qual foi realizado o processo de assepsia com PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$  e armazenado em freezer a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , não se ajustou a nenhum modelo (Figura 1).

Dessa forma, acredita-se que o conhecimento do comportamento de produção diária da broca-do-café a partir das metodologias propostas é fundamental para organização de lotes de produção. Assim, pode-se determinar um cronograma de produção, com lotes iniciando a produção, em alta produção e outros em fase final de produção, a fim de manter um número constante de brocas produzidas para montagem de experimentos.

As metodologias propostas anteriormente são complexas e dependentes de maior infraestrutura para manuseá-las. As adaptações metodológicas propostas visaram reduzir o espaço físico utilizado, facilitar o manuseio (tanto em relação à preparação dos lotes de café e armazenagem quanto na coleta da broca-do-café), reduzir a demanda por mão de obra, e principalmente reduzir o custo de produção dos insetos.

## 2.4 CONCLUSÃO

- O café robusta sem o processo de assepsia foi o melhor para a criação da broca-do-café, além de ser menos oneroso.
- Para o café arábica em coco e o pergaminho, recomenda-se o processo de assepsia com NaClO e PCB- $\text{P}_2\text{O}_5$ , respectivamente.
- O armazenamento do café em freezer a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  por 60 dias após o processo de assepsia não é recomendado para nenhum dos cafés utilizado na criação.

- A melhor técnica para criação da broca-do-café é em café robusta em coco, sem a necessidade de qualquer processo de assepsia, podendo ser armazenado em freezer a -20 °C para ser utilizado durante a entressafra.

## 2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, L.R.; CHALFOUN, S.M.; PRADO, G.; SCHWAN, R.F.; WHEALS, A.E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.85, n.3, p.293-300. 2003.
- BRUN, L.O.; GAUDICHON, V.; WIGLEY, P.J.; ORSTOM, B. An artificial diet for the continuous rearing of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Insect Science and its Applications**, Nairobi, v.14, n.5-6, p.586–587. 1993.
- BUSTILLO A.E.; OROZCO, J.; BENAVIDES, P.; PORTILLA, M. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. **Cenicafé**, Manizales, v.47, n.2, p.215-230. 1996.
- CAMPA, C.; BALLESTER, J.F.; DOULBEAU, S.; DUSSERT, S.; HAMON, S.; NOIROT, M. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, Oxford, v.88, n.1, p.39-43. 2004.
- CARRIÓN, G.; BONET, A. Mycobiota associated with the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and its galleries in fruit. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.97, n.3, p.492-499. 2004.
- CASAL, S.; OLIVEIRA, M.B.; FERREIRA, M.A. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. **Food Chemistry**, Oxford, v.68, n.4, p.481-485. 2000.
- CONSTANTINO, L.M.; NAVARRO, L.; BERRIO, A.; ACEVEDO, F.E.; RUBIO, D.; BENAVIDES, P. Aspectos biológicos, morfológicos y genéticos de *Hypothenemus obscurus* e *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v.37, n.2, p.173-182. 2011.
- CORY, J.S.; ERICSSON, J.D. Fungal entomopathogens in a tritrophic context. **BioControl**, Delémont, v.55, n.1, p.75–88. 2010.

FAIRTRADE FOUNDATION. **Fairtrade and Coffee**: Commodity Briefing. London: Fairtrade Foundation, 2012. Disponível em: <[http://www.fairtrade.org.uk/includes/documents/cm\\_docs/2012/F/FT\\_Coffee\\_Report\\_May2012.pdf](http://www.fairtrade.org.uk/includes/documents/cm_docs/2012/F/FT_Coffee_Report_May2012.pdf)>. Acesso em: 06 dez. 2013.

FERREIRA, G.F.P.; NOVAES, Q.S. DE ; MALTA, M.R.; SOUZA, S.E. DE. Quality of coffee produced in the Southwest region of Bahia, Brazil subjected to different forms of processing and drying. **African Journal of Agricultural Research**, v.8, n.20, p.2334-2339. 2013.

GAMA, F.C.; TEIXEIRA, C.A.D.; GARCIA, A.; COSTA, J.N.M.; LIMA, D.K.S. Diversidade de Fungos Filamentosos Associados a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) e suas Galerias em Frutos de *Coffea canephora* (Pierre). **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.35, n.5, p.573-578. 2006.

GUERREIRO FILHO, O.; MAZZAFERA, P. Caffeine and Resistance of Coffee to the Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, n.24, p.6987-6991. 2003.

HIROSE, E.; NEVES, P.M.O.J. Técnica para Criação e Manutenção da Broca-do-Café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), em Laboratório. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.31, n.1, p.161-164. 2002.

INFANTE, F.; MURPHY, S.T.; BARRERA, J.F.; GÓMEZ, J.W.; DAMON, A. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoide de la broca del café y algunas notas sobre su historia de vida. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v.19, p. 313–315. 1994.

JARAMILLO, J.; CHABI-OLAYE, A.; POEHLING, H-M.; KAMONJO, C.; BORGEMEISTER, C. Development of an improved laboratory production technique for the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, using fresh coffee berries. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.130, n.3, p.275–281. 2009.

KITZBERGER, C.S.G.; SCHOLZ, M.B. DOS S.; PEREIRA, L.F.P.; BENASSI, M. DE T. Composição química de cafés arábica de cultivares tradicionais e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.11, p.1498-1506. 2013.

- KY, C.L.; LOUARN, J.; DUSSERT, S.; GUYOT, B.; HAMON, S.; NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, Oxford, v.75, n.2, p.223-230. 2001.
- LIMA, M.V.; VIEIRA, H.D.; MARTINS, M.L.L.; PEREIRA, S.M.F. Preparo do café despulpado, cereja descascado e natural na região sudoeste da Bahia. **Revista Ceres**, Viçosa, v.55, n.2, p.124-130. 2008.
- MENDONÇA, L.M.V.L.; PEREIRA, R.G.F.A.; MENDES, A.N.G.; BORÉM, F.M.; MARQUES, E.R. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.2, p.413-419. 2007.
- MESSING, R.H. The Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) Invades Hawaii: Preliminary Investigations on Trap Response and Alternate Hosts. **Insects**, Switzerland, v.3, n.3, p.640-652. 2012.
- NISHIJIMA, M.; SAES, M.S.M.; POSTALI, F.A.S. Análise de Concorrência no Mercado Mundial de Café Verde. **RESR**, Piracicaba, v.50, n.1, p.069-082. 2012.
- OROZCO, H.J. **Guía para la producción del parasitoide *Phymastichus coffea* para el control de la broca del café**. CENICAFE-CFC-CABI Commodities-ICO: Chinchina, Colombia. 2002. 19p.
- PÉREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E. HOLGUÍN, F.; MACIAS, J.; VALLE, J.; NIETO, G.; PETERSON, S.W.; KURTZMAN, C.P.; O'DONNELL, K. Mycobiota associated with the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. **Mycological Research**, Manchester, v.107, p.879-887. 2003.
- PÉREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E. Does the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) have mutualistic fungi? **Annals of the Entomological Society of America**, Annapolis, v.98, n.4, p.483-490. 2005.
- PETERSON, S.W.; PÉREZ, J.; VEGA, F.E.; INFANTE, F. *Penicillium brocae*, a new species associated with the coffee berry borer in Chiapas, Mexico. **Mycologia**, Corvallis, v.95, n.1, p.141-147. 2003.

PORTILLA, M.; STREETT, D. Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de *Hypothenemus hampei* sobre la dieta artificial Cenibroca modificada. **Cenicafé**, Manizales, v.57, n.1, p.37-50. 2006.

RODRIGUES, C.I.; MARTA, L.; MAIA, R.; MIRANDA, M.; RIBEIRINHO, M.; MÁGUAS, C. Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v.20, n.5, p.440-448, 2007.

SHIKANOA, I.; ERICSSON, J.D.; CORY, J.S.; MYERS, J.H. Indirect plant-mediated effects on insect immunity and disease resistance in a tritrophic system. **Basic and Applied Ecology**, Gottingen, v.11, n.1, p.15-22. 2010.

TANIWAKI, M.H.; PITT, J.I.; TEIXEIRA, A.A.; IAMANAKA, B.T. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.82, n.2, p.173-179. 2003.

VELMOUROUGANE, K.; BHAT, R.; GOPINANDHAN. T.N. Impact of Drying Surface and Raking Frequencies on Mold Incidence, Ochratoxin A Contamination, and Cup Quality During Preparation of Arabica and Robusta Cherries at the Farm Level. **Foodborne Pathogens and Disease**, Knoxville, v.7, n.11, p.1435-1440. 2010.

VILLACORTA, A.; BARRERA, J.F. Nova dieta meridica para criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.22, n.2, p.405-409. 1993.

### 3 CAPÍTULO III

## CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI) COM INSETICIDAS BOTÂNICOS E ÓLEOS MINERAIS

### RESUMO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), é o principal problema fitossanitário da cafeicultura. Devido aos problemas causados pelos inseticidas químicos sintéticos são necessárias novas alternativas para o controle de *H. hampei*. Uma das alternativas pode ser a utilização de inseticidas botânicos, derivados principalmente de espécies das famílias Piperaceae, Fabaceae, Meliaceae e Euphorbiaceae. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar inseticidas botânicos, óleos minerais e o inseticida contendo azadiractina (ICA) no controle da broca-do-café, bem como, o poder residual do óleo de mamona. Para isso foram utilizados os óleos vegetais de canola, girassol, milho, soja e mamona, os óleos minerais assist<sup>®</sup> e naturo<sup>l</sup><sup>®</sup> e o ICA, testados na concentração de 3,0% v v<sup>-1</sup>. A concentração letal média (CL<sub>50</sub>) foi estimada usando a análise de Probit. O óleo e o extrato da torta de mamona foram avaliados na concentração de 3,0% v v<sup>-1</sup> e 3,0% m v<sup>-1</sup>, respectivamente. O ICA e o óleo de mamona causaram 40,8 e 53,7% de mortalidade da broca-do-café, e apresentaram CL<sub>50</sub> de 6,71 e 3,49% v v<sup>-1</sup>, respectivamente. Analisando o perfil cromatográfico do óleo de mamona foram identificados os ésteres metílicos dos ácidos graxos: palmítico (C<sub>16:0</sub>; 1,10%), linoleico (C<sub>18:2</sub>; 4,50%), oleico (C<sub>18:1</sub>; 4,02%), esteárico (C<sub>18:0</sub>; 0,50%) e ricinoleico (12-OH 9-C<sub>18:1</sub>; 88,04%). O extrato da torta da semente de mamona não apresentou toxicidade sobre *H. hampei*. O óleo de mamona apresentou baixa persistência no ambiente. O óleo de mamona causou a mortalidade da broca-do-café, sendo provavelmente devido ao bloqueio dos espiráculos, impedindo a respiração desse inseto.

Palavras-chave: *Ricinus communis*, *Azadirachta indica*, Óleos minerais, Óleos vegetais, Inseticida botânicos.

## CONTROL COFFEE BERRY BORER, *Hypothenemus hampei* (FERRARI) WITH BOTANICAL INSECTICIDES AND MINERALS OILS

### ABSTRACT

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) is the main phytosanitary problem of coffee culture. Due to the problems caused by synthetic chemical insecticides new alternatives for the control of *H. hampei* are required. One alternative may be the use of botanical insecticides, derived mainly species of the families, Piperaceae, Fabaceae, Meliaceae and Euphorbiaceae. Thus, the objective of this study was to evaluate botanical insecticides, mineral oils and insecticide containing azadirachtin (ICA) in the control of the coffee berry borer, as well as the residual power of castor oil. For this vegetable oils canola, sunflower, corn, soybean and castor, mineral oils Assist® and naturoil®, and the ICA, tested at a concentration of 3.0% were used. The median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) was estimated using the Probit analysis. The oil and the extract of castor bean pie were evaluated at a concentration of 3.0% v v<sup>-1</sup> e 3,0% m v<sup>-1</sup>, respectively. ICA and castor oil caused 40.8 and 53.7% mortality of the coffee berry borer and showed LC<sub>50</sub> of 6.71 and 3.49% v v<sup>-1</sup>, respectively. From the analysis of the chromatographic profile of castor oil, methyl esters of fatty acids were identified: palmitic ((C<sub>16:0</sub>; 1.10%), linoleic (C<sub>18:2</sub>; 4.50%), oleic (C<sub>18:1</sub>; 4.02%), stearic (C<sub>18:0</sub>; 0.50%) and ricinoleic acid (12-OH 9-C<sub>18:1</sub>; 88.04%). The extract of castor bean pie showed no toxicity on *H. hampei*. Castor oil was low persistence in the environment. Castor oil caused mortality of coffee berry borer being probably due to blockage of spiracles, preventing insect breathing.

Keywords: *Ricinus communis*, *Azadirachta indica*, Mineral oils, Vegetable oils, Botanical insecticides.

### 3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café, sendo responsável por 33,73% das exportações mundiais (OIC, 2014). No entanto, existem inúmeros problemas fitossanitários que tendem a afetar a produção dessa cultura, sendo a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), o principal deles (VEGA et al., 2014). Essa praga provoca danos aos frutos, reduzindo o peso dos grãos e alterando o tipo de café, classificação e sabor da bebida (BATISTA et al., 2003; VEGA et al., 2009). Conseqüentemente, as perdas econômicas, considerando os danos diretos causados por frutos perdidos e redução do peso de grãos, podem ser estimadas entre 215 e 358 milhões de dólares por ano no Brasil (OLIVEIRA et al., 2013).

O controle dessa praga normalmente é realizado com inseticidas químicos sintéticos (VEGA et al., 2009). No entanto, esses têm apresentado baixa eficiência, devido à seleção natural de linhagens de insetos resistentes e por causarem problemas ambientais como a eliminação da fauna benéfica e a crescente contaminação do solo, água, atmosfera e seres vivos (SANTOS et al., 2013). Além disso, o ingrediente ativo mais eficiente para o controle da broca-do-café, o endossulfan, foi retirado do mercado em 2013, agravando os problemas causados por esta praga, pois os demais ingredientes ativos apresentam menor eficiência comparado a esse (SOUZA et al., 2013; ANVISA, 2014).

Deste modo, novas alternativas para o controle de *H. hampei* têm sido uma necessidade crescente para a cafeicultura. Uma das alternativas para o manejo dessa praga é a utilização de inseticidas botânicos, sendo os derivados principalmente de espécies das famílias Piperaceae, Fabaceae, Meliaceae e Euphorbiaceae, os mais estudados (DARBY et al., 2001; CAZAL et al., 2009; DEPIERI & MARTINEZ, 2010; PÉREZ et al., 2012; ZORZETTI, et al., 2012; EL-WAKEIL, 2013).

Entre as substâncias extraídas de plantas, a azadiractina constitui-se como uma importante alternativa de manejo, visto que apresenta ação fisiológica, interferindo na síntese e liberação de hormônios (ecdisteroides) da glândula protorácica, levando

a ecdise incompleta em insetos imaturos (ISMAN, 2006). Além disso, a azadiractina apresenta efeito antialimentar para ampla gama de insetos e pode levar adultos do sexo feminino à esterilidade (ISMAN, 2006; LEY et al., 2008). Para *H. hampei* o óleo emulsionável, extratos de folhas e sementes de nim causaram repelência e mortalidade (DEPIERI & MARTINEZ, 2010). Os derivados da mamona também têm sido utilizados no manejo de pragas, como *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae), *Spodoptera frugiperda* Smith e *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) e *H. hampei* (BIGI et al., 2004; RAMOS-LÓPEZ et al., 2010; BESTETE et al., 2011; RONDELLI et al., 2011; TOUNOU et al., 2011; PÉREZ et al., 2012).

Apesar dos inseticidas botânicos serem uma alternativa para o controle de pragas, apresentam uma baixa persistência no ambiente (EL-WAKEIL, 2013). Tal fato, por um lado pode ser considerado vantajoso, pois esses inseticidas podem ser seletivos aos organismos não alvos e terem menor impacto no ambiente, mas por outro, exigem um maior número de aplicações para manter o inseto-praga abaixo do nível de dano econômico (EL-WAKEIL, 2013).

Além dos derivados vegetais, os óleos minerais também podem ser utilizados no controle de pragas (NICETIC et al., 2011). A principal causa de morte dos artrópodes por óleo minerais acredita-se que seja devido ao bloqueio dos espiráculos ou traqueias, em que a falta de oxigênio causa a morte dos insetos (STADLER et al., 2002; STADLER & BUTELER, 2009; BUTELER & STADLER, 2011). Esses óleos podem afetar também o tegumento, causando ruptura da membrana celular e escurecimento; o comportamento, provocando repelência de oviposição e alimentação; e o sistema nervoso (NAJAR-RODRÍGUEZ et al., 2007; 2008; BUTELER & STADLER, 2011). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar derivados vegetais, óleos minerais e o inseticida contendo azadiractina (ICA) no controle da broca-do-café, bem como o poder residual do óleo de mamona.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado 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 câmara climatizada a  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa (UR) de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

### **3.2.1 Criação e manutenção de *H. hampei***

A criação e manutenção da broca-do-café foram realizadas em sala climatizada à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa (UR) de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h. Para isso, foram coletados a campo frutos de café brocados de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner, no município de Jerônimo Monteiro - ES (latitude:  $-20^{\circ} 47' 22''$  e longitude:  $-41^{\circ} 23' 42''$ ). Posteriormente, foram lavados com solução de Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 5% v v<sup>-1</sup> utilizando água como solvente, para evitar a proliferação de eventuais contaminantes. Em seguida foram enxaguados em água corrente e expostos em ambiente ventilado, sem exposição direta à luz solar, por 24 horas. Os frutos brocados foram acondicionados em caixas plásticas (15 x 30 x 5 cm) com tampa. Para possibilitar as trocas gasosas, nas tampas foram feitas aberturas vedadas com tecido "voal". 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, se deslocassem para a extremidade livre para coleta. A coleta dos insetos foi feita com succionador de insetos pequenos adaptado a uma bomba-de-vácuo.

Para a continuação da criação, os insetos coletados foram colocados em contato com grãos sadios de café na proporção de uma broca por grão, em recipientes plásticos do tipo gerbox® quadrado (10 x 10 x 4 cm) com tampa. Esses recipientes continham 200 grãos de café, da espécie *C. canephora*, previamente lavados com NaClO a 5% v v<sup>-1</sup> por 1 minuto e enxaguados em água corrente. Os recipientes foram tampados com tecidos pretos para proporcionar condições adequadas para reprodução. Periodicamente, foi borrifada água destilada para a manutenção da umidade dos grãos (45%).

### 3.2.2 Identificação dos constituintes químicos do óleo de mamona

A reação de transesterificação foi realizada com 150 mg de óleo de mamona e álcool metílico-benzeno na proporção de 4:1, segundo metodologia proposta por Folch (1957) modificada por Lepage e Roy (1986). A mistura foi aquecida a 100 °C durante 60 minutos. Em seguida, uma alíquota de 10 µL da amostra transesterificada foi dissolvida em 1000 µL de diclorometano e injetada, em duplicata, no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG/EM). Foi feita a análise e realizada com ionização por impacto eletrônico (energia de 70 eV), usando hélio como gás de arraste com um fluxo de 1,47 mL min<sup>-1</sup> e uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária Rtx-5MS, de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno. Utilizou-se o seguinte programa de temperaturas: temperatura inicial do forno de 100 °C (5 min), rampa 10 °C min<sup>-1</sup> até aos 280 °C durante 10 minutos. A temperatura do injetor e do detector foi mantida a 250 °C. Injetou-se 1 µL efetuada em modo split; com uma razão de split de 1:5 e em modo de varrimento contínuo (modo SCAN) num intervalo m/z de 33 a 808 u.m.a. A identificação dos compostos foi realizada por comparações dos espectros de massas com os existentes na biblioteca NIST e com a literatura (Haertel, 2009; Pardo, 2010).

A quantificação dos constituintes químicos do óleo de mamona foi realizada por cromatografia em fase gasosa em um cromatógrafo SHIMADZU GC-2010 Plus equipado com detector de ionização de chama (CG-DIC) equipado com a mesma coluna descrita anteriormente. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio (0,80 mL min<sup>-1</sup>; 85,2 kPa) e as temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 250 e 280 °C, respectivamente. A programação de temperatura no forno foi à mesma utilizada nas análises por CG-EM. Injetou-se 1 µL efetuada em modo split, com uma razão de split de 1:30.

### 3.2.3 Testes de atividade inseticida de óleos vegetais, óleos minerais e do inseticida contendo azadiractina

Para execução dos experimentos foram utilizados os óleos vegetais de soja (Lote: 0912; Empresa: Bunge Alimentos S.A., Gaspar, SC), girassol (lote: 1112; Empresa: Bunge Alimentos S.A., Gaspar, SC), canola (lote: 0811; Empresa: Olvebra Indústria S.A., Eldorado do Sul, RS), milho (lote: 1012; Empresa: Bunge Alimentos S.A., Gaspar, SC) e mamona, o inseticida contendo azadiractina (ICA) (Sempre Verde Killer Neem<sup>®</sup>; lote: 12029 e 13034; Ingrediente ativo: 0,3% azadiractina; Empresa: Bonigo Indústria e Comércio LTDA, Campo Limpo Paulista, SP) e os óleos minerais, Assist<sup>®</sup> (código: 3513; Ingrediente ativo: 75,6% m v<sup>-1</sup> mistura de hidrocarbonetos parafínicos, ciclo parafínicos, aromáticos saturados e insaturados derivado do petróleo; Empresa: BASF – The Chemical Company, São Paulo, SP) e Naturoil<sup>®</sup> (lote: 0446; Ingrediente ativo: 100% hidrocarbonetos alifáticos; Empresa: Farmax – Distribuidora Amaral LTDA, Divinópolis, MG), os quais foram adquiridos em lojas do segmento, com exceção do óleo de mamona, que foi obtido a partir da prensagem a frio de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.), variedade IAC 80, adquiridas junto ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). O óleo de mamona foi armazenado em recipiente coberto com papel alumínio e fechado hermeticamente.

Cada unidade experimental foi constituída por um gerbox<sup>®</sup> (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura), forrado com papel filtro e contendo 15 fêmeas da broca-do-café recém-emergidas, sendo cada tratamento constituído de 5 repetições. Neste bioensaio os óleos foram testados na concentração de 3,0% v v<sup>-1</sup> e para preparação da calda foram adicionados espalhante adesivo (Tween<sup>®</sup> 80 PS; Empresa: Dinâmica Química Contemporânea LTDA, Diadema, SP) a 0,01% m v<sup>-1</sup> e acetona a 2% v v<sup>-1</sup>. Na testemunha usou-se água deionizada mais espalhante adesivo a 0,01% (m.v<sup>-1</sup>) e acetona a 2% v v<sup>-1</sup>. A pulverização foi realizada sobre fêmeas da broca-do-café por meio de Torre de Potter<sup>®</sup> à pressão de 15 libras pol<sup>-2</sup>, aplicando-se um volume de 5,5 mL por repetição. Desta forma, com a pressão e o volume utilizados na Torre de Potter<sup>®</sup> foi depositado volume médio de 1,78 mg cm<sup>-2</sup>, variando de 1,43 a 2,08 mg cm<sup>-2</sup>, em acordo com recomendação da IOBC/WPRS (“International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section”), que é um depósito de 1,5 a 2,0 mg cm<sup>-2</sup> para superfícies de vidro ou folha (OVERMEER & VAN ZON, 1982). Após a pulverização foi oferecido como alimento 0,15 gramas de café moído/gerbox<sup>®</sup>.

A avaliação da mortalidade foi realizada sete dias após a liberação das fêmeas, sendo corrigida de acordo com a fórmula de Abbott (1925). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância. Os dados foram agrupados pelo método de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

### **3.2.4 Estimativa da concentração letal média (CL<sub>50</sub>)**

A estimativa da CL<sub>50</sub> foi feita para os tratamentos que causaram mortalidade corrigida superior a 40,0%. Essa etapa do bioensaio foi realizada de acordo com item 3.2.3. Para a estimativa das concentrações letais foram utilizadas oito concentrações espaçadas em escala logarítmica, sendo os limites inferior (concentração que causa a morte de aproximadamente 15% dos insetos) e superior (concentração que causa a morte de mais de 50% dos insetos, não se obtiveram mortalidades superiores a 95%, portanto não foi calculado a CL<sub>90</sub>) determinados mediante ensaios preliminares, além das respectivas testemunhas. Os limites da CL<sub>50</sub> inferior e superior para ICA foram 0,5-10,0% v v<sup>-1</sup>, respectivamente, já para o óleo de mamona foram 0,5-5,0% v v<sup>-1</sup>. A CL<sub>50</sub> foi estimada usando a análise de Probit com auxílio do programa Polo-PC, com intervalo de confiança de 95% (FINNEY, 1971, LEORA SOFTWARE, 1987).

### **3.2.5 Obtenção e teste de atividade inseticida de derivados da mamona**

Foram avaliados o óleo e a torta de mamona. O óleo de mamona foi utilizado na concentração de 3,0% v v<sup>-1</sup> e adicionado espalhante adesivo a 0,01% m v<sup>-1</sup> e acetona a 2% v v<sup>-1</sup>. Na testemunha usou-se água deionizada mais espalhante adesivo a 0,01% m v<sup>-1</sup> e acetona a 2% v v<sup>-1</sup>. Para a obtenção do óleo e da torta de mamona, as sementes foram submetidas à prensagem a frio, conforme descrito no item 3.2.3. O extrato da torta de mamona foi obtido a partir de 20 g de torta moída em cadinho. Em seguida, o material vegetal foi transferido para béquer contendo

solução tampão  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , de massas 3,40, 0,88, e 3,55 g  $\text{L}^{-1}$  de água deionizada (pH 6,0), respectivamente. A mistura foi mantida em agitador magnético por 30 minutos e, posteriormente, foi filtrada em tecido “voal”. O extrato obtido foi diluído em relação à massa da torta para a concentração de 3%  $\text{m v}^{-1}$ , usando a solução tamponada citada anteriormente. Na testemunha utilizou-se apenas solução tamponada.

A unidade experimental e pulverização foram conforme descrito no item 3.2.3. A avaliação da mortalidade foi realizada após sete dias, sendo corrigida de acordo com a fórmula de Abbott (1925). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

### **3.2.6 Poder residual do óleo de mamona**

Nesse experimento, cada unidade experimental também foi constituída por um gerbox<sup>®</sup> (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura) forrado com papel filtro e contendo 15 fêmeas da broca-do-café recém-emergidas, sendo cada tratamento constituído de 5 repetições. As concentrações do óleo de mamona foram as seguintes: 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0%  $\text{v v}^{-1}$  e o controle (0,0%). Na preparação da calda foi adicionado espalhante adesivo, Tween<sup>®</sup> 80 PS, a 0,05%  $\text{v v}^{-1}$ . A pulverização foi realizada sobre o café moído (0,15 gramas de café moído/gerbox<sup>®</sup>) por meio de Torre de Potter<sup>®</sup> à pressão de 15 libras  $\text{pol}^{-2}$ , aplicando-se um volume de 5,5 mL por repetição. Foram feitas as infestações das fêmeas da broca-do-café 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias após aplicação.

A avaliação da mortalidade foi realizada sete dias após a liberação das fêmeas, sendo corrigida de acordo com a fórmula de Abbott (1925). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema de parcela subdividida no tempo 6 x 6 (concentrações do óleo de mamona x tempos de inoculação). Os dados foram submetidos à análise de variância. Para verificar o efeito das concentrações do óleo de mamona e dos tempos de inoculação sobre a mortalidade da broca os dados foram submetidos à análise de regressão ao nível de 5% de probabilidade.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Identificação dos constituintes químicos do óleo de mamona

O óleo de mamona apresenta algumas características que o diferencia dos demais, como o menor valor de índice de iodo e o maior de viscosidade, que são propriedades que estão diretamente relacionadas à constituição química (Tabela 1). Entre os óleos vegetais testados, o óleo de mamona é o único com o éster de ácido graxo ricinoleico em sua constituição e apresenta os menores teores dos ésteres dos ácidos graxos palmítico, oleico, linoleico e linolênico (Tabela 1).

**Tabela 1.** Características físico-químicas dos óleos vegetais<sup>1</sup>.

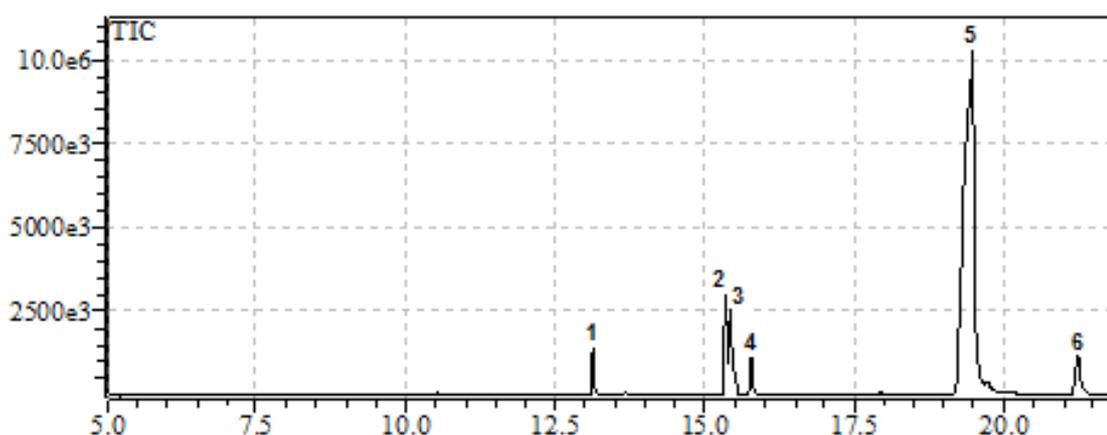
<b>Composição química (%)<sup>2</sup></b>	<b>Canola</b>	<b>Girassol</b>	<b>Milho</b>	<b>Soja</b>	<b>Mamona</b>
Ácido Palmítico (C <sub>16:0</sub> )	3,75	5,70	10,47	9,90	0,70
Ácido Esteárico (C <sub>18:0</sub> )	1,87	4,79	2,02	3,94	0,90
Ácido Oleico (C <sub>18:1</sub> )	62,41	15,26	24,23	21,35	2,80
Ácido Ricinoleico (C <sub>18:1</sub> )	-	-	-	-	90,20
Ácido Linoleico (C <sub>18:2</sub> )	20,12	71,17	60,38	56,02	4,40
Ácido Linolênico (C <sub>18:3</sub> )	8,37	0,45	0,99	7,15	0,20
<b>Constante química</b>					
Saponificação (mg/KOHg)	168-181	186-198	187-195	189-195	182,90
Iodo (g I <sub>2</sub> /100g)	94-120	136-148	103-135	124-139	84,50
<b>Constante física</b>					
Índice de refração (40°C)	1,465-1,469	1,467-1,470	1,465-1,468	1,466-1,470	1,479
Viscosidade (cP) (30°C)	50,50	41,30	47,40	41,20	332,00

<sup>1</sup>Fonte: Conceição et al. (2007); Zambiasi et al. (2007); Brock et al. (2008); Salimon et al. (2010); Codex Alimentarium (2014).

<sup>2</sup>Número de átomos de carbono: número de dupla ligações.

<sup>3</sup>Composição do óleo utilizado no experimento.

O perfil dos ácidos graxos presentes no óleo de mamona foi obtido após a análise cromatográfica dos compostos presentes na mistura da reação de transesterificação (Figura 1). Após a análise do perfil cromatográfico, observa-se que se encontra coerente com o esperado para o óleo de mamona, uma vez que foram identificados os ésteres metílicos dos ácidos graxos: palmítico ( $C_{16:0}$ ; 1,10%), linoleico ( $C_{18:2}$ ; 4,50%), oleico ( $C_{18:1}$ ; 4,02%), esteárico ( $C_{18:0}$ ; 0,50%) e ricinoleico (12-OH 9- $C_{18:1}$ ; 88,04%).



**Figura 1.** Cromatograma do óleo de mamona da variedade IAC 80 após reação de transesterificação. 1 –  $C_{16:0}$ ; 2 –  $C_{18:2}$ ; 3 –  $C_{18:1}$ ; 4 –  $C_{18:0}$ ; 5 – 12-OH  $C_{18:1}$ ; 6 – NI (não identificado).

### 3.3.2 Testes de atividade inseticida de derivados vegetais, óleos minerais e do inseticida contendo azadiractina

A mortalidade da broca-do-café causada pelos óleos vegetais, óleos minerais e ICA apresentou diferenças estatísticas ( $F_{7:39} = 6,49$ ;  $P = 0,0001$ ) (Tabela 2). Os óleos minerais Naturo!® e Assist® e os óleos vegetais de canola, milho, soja e girassol apresentaram os menores valores de mortalidade de *H. hampei*, variando entre 13,6 a 30,3% (Tabela 2). As maiores mortalidades da broca-do-café foram observadas para o ICA e o óleo de mamona, não havendo diferenças entre esses, que causaram 40,8 e 53,7% de mortalidade, respectivamente, na concentração de 3,0% v v<sup>-1</sup> (Tabela 2). O extrato da torta de mamona a 3,0% m v<sup>-1</sup> não teve ação inseticida sobre a broca-do-café (Tabela 3).

O ICA e o óleo de mamona apresentaram os valores de  $CL_{50}$ , 6,71 e 3,49% v v<sup>-1</sup>, respectivamente, para a broca-do-café (Tabela 2). Apesar de não haver diferença entre os valores de  $CL_{50}$  do ICA e do óleo de mamona, a razão de toxicidade do óleo de mamona em relação ao ICA foi de 1,92 vezes (Tabela 2). A reta de concentração-mortalidade não apresentou diferença quanto ao grau de inclinação para ICA e o óleo de mamona, tendo comportamento semelhante da mortalidade da broca-do-café em função das concentrações dos óleos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Mortalidade corrigida (%) de fêmeas da broca-do-café por óleos vegetais, óleos minerais e pelo inseticida contendo azadiractina a 3,0% v v<sup>-1</sup> e concentração letal média ( $CL_{50}$ ), a 25 ± 1 °C, UR de 60 ± 10% e fotofase de 12h.

Óleos	Mortalidade <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	Inclinação ± EP <sup>3</sup>	$CL_{50}$ (IC a 95%) <sup>4</sup> (% v/v)	RT <sub>50</sub> <sup>5</sup>	$\chi^2$ (GL) <sup>6</sup>
NaturoI®	13,6 ± 2,99 b	75	-	-	-	-
Assist®	16,0 ± 5,71 b	75	-	-	-	-
Canola	25,4 ± 5,54 b	75	-	-	-	-
Milho	26,5 ± 4,10 b	75	-	-	-	-
Soja	29,0 ± 2,89 b	75	-	-	-	-
Girassol	30,3 ± 7,46 b	75	-	-	-	-
ICA <sup>7</sup>	40,8 ± 5,68 a	574	1,71 ± 0,25	6,71 (5,35 – 8,87)	-	4,05 (5)
Mamona	53,7 ± 4,68 a	521	1,65 ± 0,33	3,49 (2,65 – 5,52)	1,92	2,08 (4)

<sup>1</sup>Médias (± EP) seguidas pelas mesmas letras minúscula na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo método de agrupamento de Scott-Knott.

<sup>2</sup>Número de insetos usados no bioensaio.

<sup>3</sup>Erro-padrão (médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo erro-padrão).

<sup>4</sup>Concentração letal ( $CL_{50}$ ) e intervalo de confiança da  $CL_{50}$  a 95% de probabilidade (IC a 95%) (médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo IC a 95%).

<sup>5</sup>Razão de toxicidade = maior  $CL_{50}$ /menor  $CL_{50}$ .

<sup>6</sup>Qui-quadrado e graus de liberdade.

<sup>7</sup>Inseticida contendo azadiractina (ICA) – Sempre Verde Killer Neem® (SVKN)

No caso dos óleos minerais NaturoI® e Assist® e dos óleos vegetais de canola, milho, soja e girassol, a ação desses pode ter sido por recobrimento dos espiráculos do inseto causando asfixia e, conseqüentemente, a morte. Essa asfixia do inseto devido ao bloqueio dos espiráculos e/ou traqueias tem sido relatada por alguns pesquisadores como o principal modo de ação de óleos minerais e em alguns casos

para óleos vegetais (HALL & HARMAN, 1991; LAW-OGBOMO & EGHAREVBA, 2006; STADLER & BUTELER, 2009; EGWURUBE et al., 2010; BUTELER & STADLER, 2011). Os óleos podem causar também redução na dureza da cutícula, como observado em *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), induzindo mudanças estruturais (STADLER et al., 2002). Esses autores encontraram uma correlação entre amolecimento da cutícula e toxicidade de óleos, estando esta associada ao aumento da mortalidade.

**Tabela 3.** Mortalidade corrigida da broca-do-café por derivados da mamona, a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

Derivados da mamona	Concentração	Mortalidade <sup>1</sup>
Extrato da torta	3,0% m v <sup>-1</sup>	0,0 ± 0,00 B
Óleo	3,0% v v <sup>-1</sup>	53,7 ± 4,68 A

<sup>1</sup>Médias (± EP) seguidas pelas mesmas letras maiúscula na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

O óleo de mamona pode ser diferenciado físico-quimicamente em relação a outros óleos vegetais, principalmente devido ao elevado teor de ácido ricinoleico e à alta viscosidade (Tabela 1). O óleo de mamona é constituído em 88,04% por ácido ricinoleico, e este apresentou ação sobre a morfofisiologia dos ovários e das glândulas salivares de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae), evitando dois processos importantes: o de reprodução e o de alimentação (ARNOSTI et al., 2011a, 2011b; SAMPIERI et al., 2013). Para a broca-do-café acredita-se que a mortalidade esteja correlacionada com alta viscosidade do óleo de mamona, pois essa característica confere a esse óleo maior capacidade de cobrir os insetos, bloqueando os espiráculos e/ou traqueias e, conseqüentemente, causando a morte por asfixia. Para óleos minerais essa característica física está relacionada tanto com a ação inseticida quanto também com fitotoxicidade; no entanto, tais relações ainda não foram descritas para óleos vegetais (STADLER & BUTELER, 2009; NICETIC et al., 2011).

A atividade inseticida do óleo de mamona já foi comprovada para pragas como *S. frugiperda*, *H. zea* e *P. xylostella* (RAMOS-LÓPEZ et al., 2010; BESTETE et al., 2011; RONDELLI et al., 2011; TOUNOU et al., 2011). Entretanto, para a broca-do-café apenas o extrato de folhas verdes (2,2 g L<sup>-1</sup> de água fervida) foi avaliado,

apresentando redução no número de indivíduos por amostra analisada após 72 horas da aplicação (PÉREZ et al., 2012). Para o óleo de nim (Dalneem®; 0,1% v v<sup>-1</sup> de azadiractina; Empresa: Dalneem Brasil, Itajaí, SC) observou-se redução do número de grãos brocados por *H. hampei* devido à mortalidade e repelência (DEPIERI & MARTINEZ, 2010). Os autores encontraram até 88,3% de mortalidade quando fêmeas de *H. hampei* e os grãos de café foram pulverizados com uma solução aquosa de óleo emulsionável de nim a 1% v v<sup>-1</sup>. Constataram também que o número de grãos brocados foi menor quando aplicado o óleo de nim (13,8%) comparado à testemunha (64,6%).

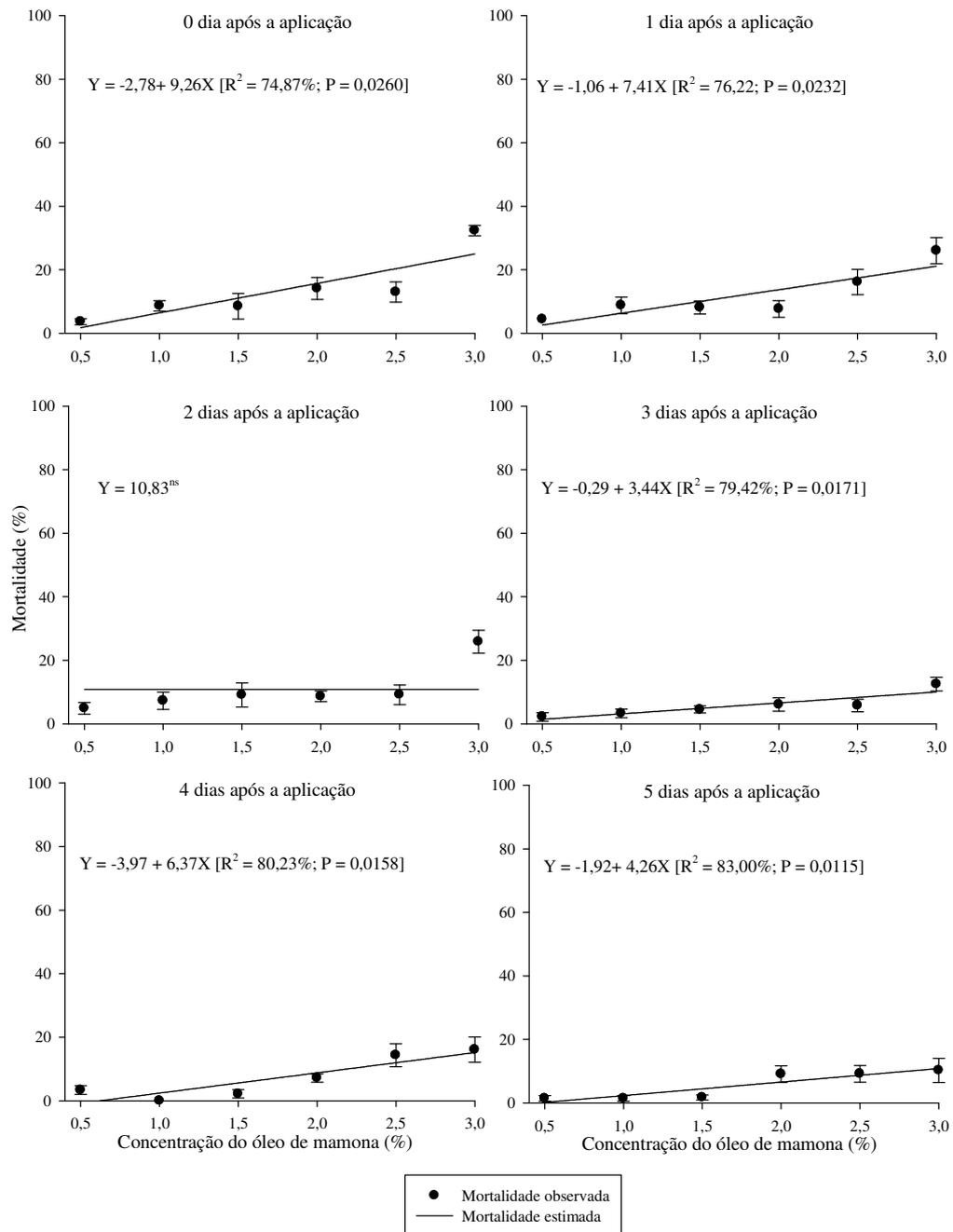
O ICA e o óleo de mamona apresentaram valores de CL<sub>50</sub> mais baixos para outras pragas quando comparados à broca-do-café. Tal fato pode ser observado para adultos de *Rhizopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) em que o produto NeemAza<sup>®</sup> - T/S (Ingrediente ativo: Azadiractina (1%); Empresa: Trifolio - GMBH Company, Lahn-Dill-Kreis, Alemanha) apresentou uma CL<sub>50</sub> de 148 ppm (0,015%) após 7 dias (EL-LAKWAH et. al., 2011) e para adultos de *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrichidae), onde o extrato de folhas de nim obtido em éter de petróleo apresentou uma CL<sub>50</sub> de 0,040% após 5 dias (MUKANGA et al., 2010). Com relação ao óleo de mamona, a CL<sub>50</sub> para lagartas de *S. frugiperda* foi de 4,83 x 10<sup>3</sup> ppm (0,483%), valor 7,22 vezes menor que o apresentado neste trabalho para *H. hampei* (RAMOS-LÓPEZ et al., 2010).

### 3.3.3 Poder residual do óleo de mamona

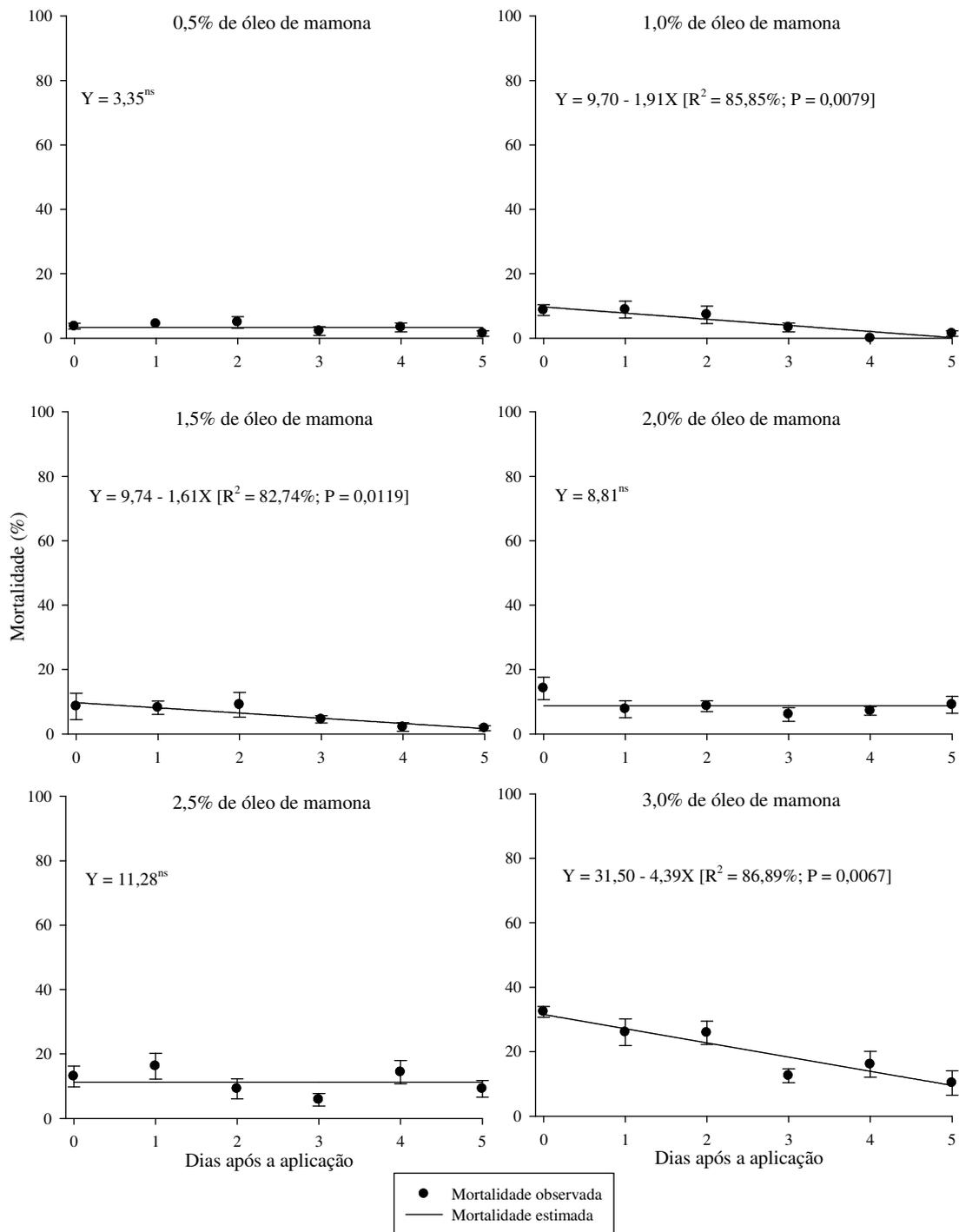
Os resultados apresentaram interação entre os fatores concentração do óleo de mamona e dias após a aplicação sobre a mortalidade da broca-do-café ( $F_{25:179} = 2,22$ ;  $P = 0,0018$ ) (Figura 2, Figura 3).

Analisando a mortalidade de *H. hampei* em função das concentrações do óleo de mamona, observou-se que para a mortalidade da broca-do-café liberadas 0, 1, 3, 4 e 5 dias após a aplicação do óleo de mamona ajustou-se ao modelo linear ( $R^2 = 74,87\%$  e  $P = 0,0260$ ;  $R^2 = 76,22\%$  e  $P = 0,0232$ ;  $R^2 = 79,42\%$  e  $P = 0,0171$ ;  $R^2 = 80,23\%$  e  $P = 0,0158$ ;  $R^2 = 83,00\%$  e  $P = 0,0115$ , respectivamente), ou seja, há um

aumento da mortalidade em função do aumento da concentração do óleo de mamona (Figura 2). No entanto, para inoculação após 2 dias a mortalidade de *H. hampei* manteve-se constante em função das concentrações, com média de 10,83% de mortalidade (Figura 2). Essa tendência de aumento da mortalidade em função do aumento das concentrações também foi verificada quando se utilizou extrato acetônicos de folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) ( $25 \text{ mg mL}^{-1}$ ) para o controle da broca-do-café (SANTOS et al., 2010).



**Figura 2.** Efeito residual do óleo de mamona sobre a broca-do-café, dias após a aplicação em função das concentrações, a  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.



**Figura 3.** Efeito residual do óleo de mamona sobre a broca-do-café, concentração em função dos dias após a aplicação, a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

A mortalidade da broca-do-café causada pelo residual do óleo de mamona para a concentração de 0,5, 2,0 e 2,5% v v<sup>-1</sup> não se ajustou a nenhum modelo, mantendo-se constante ao longo do tempo, com média de 3,35, 8,81 e 11,28% de mortalidade, respectivamente (Figura 3). Entretanto, para as concentrações de 1,0, 1,5 e 3,0% v v<sup>-1</sup> a mortalidade de *H. hampei* ao longo do tempo apresentada pelo residual do óleo

de mamona ajustou-se ao modelo linear ( $R^2 = 85,85\%$  e  $P = 0,0079$ ;  $R^2 = 82,74\%$  e  $P = 0,0119$ ;  $R^2 = 86,89\%$  e  $P = 0,0067$ , respectivamente), ou seja, há uma redução da mortalidade em função do tempo (Figura 3). Tal fato implica numa perda da ação inseticida do óleo de mamona com o decorrer do tempo, aliada também a uma baixa mortalidade devido à ação indireta do óleo. Esse está presente no ambiente, mas não em quantidade suficiente para provocar alta mortalidade da broca-do-café comparado a quando se faz aplicação direta sobre a praga (Tabela 2).

O conhecimento da persistência dos inseticidas botânicos no ambiente é de extrema relevância, pois a broca-do-café permanece praticamente todo seu ciclo de vida dentro do fruto do café, o que a torna uma praga de difícil controle (VEGA et al., 2014). Assim, para que uma molécula inseticida atinja as fêmeas da broca-do-café é necessário que deixem os frutos, o que normalmente ocorre de setembro a dezembro, período de trânsito da broca, quando essa sai à procura de alimento (DAMON, 2000).

Assim como no presente trabalho, os efeitos residuais do óleo de mamona revelaram significativa diminuição na mortalidade larval de *P. xylostella* com o tempo entre a aplicação e a liberação de insetos (TOUNOU et al., 2011). Esses fatos podem estar relacionados com a baixa persistência do óleo de mamona, necessitando de pesquisas que visem melhorar tal característica. Em comparação com os inseticidas químicos sintéticos, inseticidas botânicos são relativamente instáveis e a degradação é, consideravelmente, mais rápida quando expostos a elementos, tais como a luz, a temperatura e o ar (GANGWAR, 2012; RADWAN & EL-SHIEKH, 2012; TUREK & STINTZING, 2013). Uma vez que os compostos químicos da planta tenham sido removidos do compartimento de proteção como resultado de métodos de extração destrutivos, os componentes estarão sujeitos a danos oxidativos, transformações químicas e/ou reações de polimerização (MIRESMALLI & ISMAN, 2014). Além disso, com idade os extratos de plantas podem perder qualidade de alguns de seus atributos, tais como odor, sabor, cor e consistência (TUREK & STINTZING, 2013). A diversidade de composição dos extratos botânicos e a instabilidade dos constituintes podem tornar os inseticidas botânicos inadequados para aplicações, principalmente quando se deseja efeitos residuais durante longos períodos de tempo (GANGWAR, 2014; MIRESMALLI & ISMAN, 2014). Deste modo, principalmente no caso da broca-do-café, que

apresenta hábito críptico, estudos sobre o poder residual de inseticidas botânicos é um fator importante para que se tenha sucesso no manejo dessa praga com produtos oriundos de plantas.

### 3.4 CONCLUSÃO

- O ICA e o óleo de mamona causaram as maiores mortalidades da broca-do-café.
- O extrato da torta da semente de mamona não apresentou toxicidade sobre *H. hampei*.
- O óleo de mamona apresentou baixa persistência no ambiente.
- A partir dos resultados obtidos constata-se que o óleo de mamona causa mortalidade da broca-do-café, provavelmente devido ao bloqueio dos espiráculos, impedindo a respiração desse inseto.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.18, n.1, p.265-267. 1925.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Resolução-RDC Nº 28: Regulamento técnico para o ingrediente ativo endossulfam em decorrência da reavaliação toxicológica**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4af12d80474591dd9a38de3fbc4c6735/Decis%C3%A3o.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 12 jul. 2014.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, P.D.; FURQUIM, K.C.S.; GILBERTO, O.C.B.; CLARO NETO, S.; BECHARA, G.H.; SAMPIERI, B.R.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effects of *Ricinus communis* oil esters on salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, Berlin, v.127, n.2, p.569-574. 2011a.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, P.D.; FURQUIM, K.C.S.; CHIERICE, G.O.; BECHARA, G.H.; CALLIGARIS, I.B.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effects of ricinoleic acid esters from castor oil of *Ricinus communis* on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. **Experimental Parasitology**, Berlin, v.127, n.2, p.575-580. 2011b.

BATISTA, L.R.; CHALFOUN, S.M.; PRADO, G.; SCHWAN, R.F.; WHEALS, A.E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.85, n.3, p.293-300. 2003.

BESTETE, L.R.; PRATISSOLI, D.; QUEIROZ, V.T. DE; CELESTINO, F.N.; MACHADO, L.C. Toxicidade de óleo de mamona a *Helicoverpa zea* e a *Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.8, p.791-797. 2011.

BIGI, M.F.M.A.; TORKOMIAN, V.L.V.; GROOTE, S.T.C.S.; HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, Malden, v.60, n.9, p.933-938. 2004.

BROCK, J.; NOGUEIRA, M.R.; ZAKRZEWSKI, C.; CORAZZA, F. DE C.; CORAZZA, M.L.; OLIVEIRA, J.V. DE. Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p.564-570. 2008.

BUTELER, M.; STADLER, T. A Review on the Mode of Action and Current Use of Petroleum Distilled Spray Oils, p.119-137. In: STOYTCHIEVA, M. (Ed.). **Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management**. Rijeka: InTech Europe, 2011.

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.

CODEX ALIMENTARUM. **Codex standard for named vegetable oils - Codex Stan 210 (Amended 2003, 2005)**. Disponível em: < <http://www.justice.gov.md/file/Centrul%20de%20armonizare%20a%20legislatiei/Baza%20de%20date/Materiale%202008/Legislatie/Codex%20STAN%20210.PDF>>. Acesso em: 15 ago. 2014.

CONCEIÇÃO, M.M.; CANDEIA, R.A.; SILVA, F.C.; BEZERRA, A.F.; FERNANDES JR., V.J.; SOUZA, A.G. Thermoanalytical characterization of castor oil biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Golden, v.11, n.5, p.964-975. 2007.

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.

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.

EGWURUBE, E.; MAGAJI, B.T.; LAWAL, Z. Laboratory evaluation of neem (*Azadirachta indica*) seed and leaf powders for the control of khapra beetle, *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae) infesting groundnut. **International Journal of Agriculture & Biology**, Pakistan, v.12, n.4, p.638-640. 2010.

EL-LAKWAH, F.A.; DARWISH, A.A.; MOHAMED, R.A.; ALY, M.Y. Effectiveness of Some Plant Dusts and Insecticides against Lesser Grain Borer-*Rhizopertha dominica* (F) (Coleoptera: Bostrychidae). **Egyptian Journal of Agricultural Research**, Giza, v.89, n.3, p.863-883. 2011.

EL-WAKEIL, N.E. Botanical Pesticides and Their Mode of Action. **Gesunde Pflanzen**, Heidelberg, v.65, n.4, p.125-149. 2013.

FINNEY, D.J. **Probit Analysis**. London: Cambridge University Press, 1971. 333p.

GANGWAR, S.K. Experimental study to find the effect of different neem (*Azadirachta indica*) based products against moringa hairy caterpillar (*Eupterote mollifera* Walker. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, Agra, v.1, n.8, p.35-38. 2012.

GAHUKAR, R.T. Factors affecting content and bioefficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) phytochemicals used in agricultural pest control: A review. **Crop Protection**, Lincoln, v.62, p.93-99. 2014.

HAERTEL, P.L. **Desenvolvimento de um novo processo para a produção de biodiesel etílico de mamona**. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental. Rio Grande do Sul - RS, Brasil. 2009.

HALL, J.S.; HARMAN, G.E. Protection of stored legume seeds against attack by storage fungi and weevils: Mechanism of action of Lipodal and oil seed treatments. **Crop Protection**, Lincoln, v.10, n.5, p.375-380. 1991.

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.

LAW-OGBOMO, K.E.; EGHAREVBA, R.K.A. The Use of Vegetable Oils in the Control of *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera: Bruchidae) in Three Cowpea Varieties. **Asian Journal of Plant Sciences**, Baghdad, v.5, n.3, p.547-552. 2006.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC: a User's Guide to Probit or Logit Analyses**. Berkeley: LeOra Software, 1987. 22p.

LEPAGE, G.; ROY, C.C. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. **Journal of Lipid Research**, Rockville, v.27, n.1, p.114-120. 1986.

LEY, S.V.; ABAD-SOMOVILLA, A.; ANDERSON, J.C.; AYATS, C.; BÄNTELI, R.; BECKMANN, E.; BOYER, A.; BRASCA, M.G.; BRICE, A.; BROUGHTON, H.B.; BURKE, B.J.; CLEATOR, E.; CRAIG, D.; DENHOLM, A.A.; DENTON, R.M.; DURAND-REVILLE, T.; GOBBI, L.B.; GÖBEL, M.; GRAY, B.L.; GROSSMANN, R.B.; GUTTERIDGE, C.E.; HAHN, N.; HARDING, S.L.; JENNENS, D.C.; JENNENS, L.; LOVELL, P.J.; LOVELL, H.J.; DE LA PUENTE, M.L.; KOLB, H.C.; KOOT, W.-J.; MASLEN, S.L.; MCCUSKER, C.F.; MATTES, A.; PAPE, A.R.; PINTO, A.; SANTAFIANOS, D.; SCOTT, J.S.; SMITH, S.C.; SOMERS, A.Q.; SPILLING, C.D.; STELZER, F.; TOOGOOD, P.L.; TURNER, R.M.; VEITCH, G.E.; WOOD, A.; ZUMBRUNN, C. The synthesis of azadirachtin: A potent insect antifeedant. **Chemistry - A European Journal**, Stockholm, v.14, n.34, p.10683-10704. 2008.

MIRESMALLI, S.; ISMAN, M.B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science - Cell Press**, Cambridge, v.19, n.1, p.29-35. 2014.

MUKANGA, M.; DEEDAT, Y.; MWANGALA, F.S. Toxic effects of five plant extracts against the larger grain borer, *Prostephanus truncates*. **African Journal of Agricultural Research**, Ago-Iwoye, v.5, n.24, p.3369-3378. 2010.

NAJAR-RODRÍGUEZ, A.J., WALTER, G.H. & MENSAH, R.K. The efficacy of a petroleum spray oil against *Aphis gossypii* Glover on cotton. Part 1: Mortality rates and sources of variation. **Pest Management Science**, Malden, v.63, n.6, p.586-595. 2007.

NAJAR-RODRÍGUEZ, A.J.; LAVIDIS, N.A.; MENSAH, R.K.; CHOY, P.T.; WALTER, G.H. The toxicological effects of petroleum spray oils on insects – Evidence for an alternative mode of action and possible new control options. **Food and Chemistry Toxicology**, Andover, v.46, n.9, p.3003-3014. 2008.

NICETIC, O.; CHO, Y.R.; RAE, D.J. Impact of physical characteristics of some mineral and plant oils on efficacy against selected pests. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v.135, n.3, p.204–213. 2011.

OIC (ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ). **Exporting Countries: Total Production**. Disponível em: <[http://www.ico.org/pt/new\\_historical\\_p.asp?section=Estad %EDstica](http://www.ico.org/pt/new_historical_p.asp?section=Estad%EDstica)>. Acesso em: 11 jul. 2014.

OLIVEIRA, C.M.; AUAD, A.M.; MENDES, S.M.; FRIZZAS, M.R. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v.137, n.1-2, p.1-15. 2013.

OVERMEER, W. P. J.; VAN ZON, A. Q. A standardized method for testing the side effect of pesticides on the predaceous mite, *Amblyseius potentillae* (Acari: Phytoseiidae). **Entomophaga**, Nice, v.27, n.4, p.357- 364. 1982.

PARDO, V.L. **Desenvolvimento e validação de método para determinação do perfil graxo do biodiesel de tungue e blendas com soja empregando GC-MS**. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental. Rio Grande do Sul - RS, Brasil. 2010.

PÉREZ, Y. O.; ZAYAS, D.V.; VILLA, O.V.; PUENTES, R.A.; GARCÍA, S.T. Aplicación de extractos de hojas de *Ricinus communis* L. en el control de la Broca del cafeto. **Centro Agrícola**, Villa Clara, v.39, n.1, p.85-90. 2012.

RADWAN, O.A.; EL-SHIEKH, Y.W.A. Degradation of neem oil 90% EC (azadirachtin) under storage conditions and its insecticidal activity against cotton leafworm, *S. littoralis*. **Researcher**, New York, v.4, n.3, p.77-83. 2012.

RAMOS-LÓPEZ, M.A.; PÉREZ G.S.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, C.; GUEVARA-FEFER, P.; ZAVALA-SÁNCHEZ, M.A. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, Bowie, v.9, n.9, p.1359-1365. 2010.

RONDELLI, V.M.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MARQUES, E.J.; STURM, G.M.; TIBURCIO, M.O. Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no controle da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.2, p.212-214. 2011.

SALIMON, J.; MOHD NOOR, D.A.; NAZRIZAWATI, A.T.; MOHD FIRDAUS, M.Y.; NORAI SHAH, A. Fatty Acid Composition and Physicochemical Properties of Malaysian Castor Bean *Ricinus communis* L. Seed Oil. **Sains Malaysiana**, Bangi, v.39, n.5, p.761–764. 2010.

SAMPIERI, B.R.; ARNOSTI, A.; FURQUIM, K.C.S.; CHIERICE, G.O.; BECHARA, G.H.; CARVALHO, P.L.P.F. DE; NUNES, P.H.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effect of ricinoleic acid esters from castor oil (*Ricinus communis*) on the oocyte yolk components of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, Dublin, v.191, n.3-4, p.315-322. 2013.

SANTOS, M.R.A.; 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*). **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v.33, n.2, p.319-324. 2010.

SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; SILVA, A.G.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; FACUNDO, V.A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.4, p.757-762. 2013.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; SILVA, R.A.; CARVALHO, T.A.F. DE; PEREIRA, A.B. Controle químico da broca-do-café com cyantraniliprole. **Coffee Science**, Lavras, v.8, n.4, p.404-410. 2013.

STADLER, T.; ZERBA, M.I.; BUTELER, M. Toxicity and cuticle softening effect by mineral and vegetable oils to the cotton boll weevil *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), p.152-155. In: BEATTIE, G.A.C.; WATSON, D.M.; STEVENS, M.L.; RAE, D.J.; SPOONER-HART, R.N. (Ed.). **Spray Oils Beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management**. Sydney: University Western Sydney, 2002.

STADLER, T.; BUTELER, M. Modes of entry of petroleum distilled spray-oils into insects: a review. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v.62, n.2, p.169-177. 2009.

TOUNOU, A.K.; GBÉNONCHI, M.; SADATE, A.; KOMI, A.; DIEUDONNÉ, G.Y.M.; KOMLA, S. Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. **Journal of Applied Biosciences**, Grahamstown, v.43, n.3, p.2899-2914. 2011.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Manfred Kroeger, v.12, n.1, p.40-53. 2013.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, Washington, v.2, n.2, p.129-147. 2009.

VEGA, F.E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; KRAMER, M.; LAND, M.F. On the Eyes of Male Coffee Berry Borers as Rudimentary Organs. **PLoS ONE**, San Francisco, v.9, n.1, p.858-860. 2014.

ZAMBIAZI, R.C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M.W.; MENDONÇA, C.B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **B.CEPPA**, Curitiba, v.25, n.1, p.111-120. 2007.

ZORZETTI, J.; NEVES, P.M.O.J.; CONSTANSKI, K.C.; SANTORO, P.H.;  
FONSECA, I.C.B. Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera:  
Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33,  
suplemento 1, p.2849-2862. 2012.

## 4 CAPÍTULO IV

### COMPATIBILIDADE *IN VIVO* ENTRE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN E ÓLEO DE MAMONA SOBRE *Hypothenemus hampei* (FERRARI)

#### RESUMO

Estudos do grau de compatibilidade *in vivo* entre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) e o óleo de mamona são importantes na preservação deste entomopatógeno e, conseqüentemente, na manutenção do equilíbrio ambiental dentro do sistema agrícola. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade *in vivo* entre o óleo de mamona e *B. bassiana* sobre a broca-do-café. Foi utilizado o isolado CCA-UFES/Bb-4 de *B. bassiana* nas concentrações de 0,0 (controle),  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^7$  conídios mL<sup>-1</sup>. As concentrações do óleo de mamona foram as seguintes: 0,0 (controle), 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0% v v<sup>-1</sup>. Foram avaliadas as mortalidades total e confirmada e os dados submetidos à análise de variância. Para verificar o efeito das concentrações de *B. bassiana* e das concentrações do óleo de mamona, foram submetidos à análise de regressão, ao nível de 5% de probabilidade. Óleo de mamona apresentou efeito antagônico sobre *B. bassiana* reduzindo a mortalidade da broca-do-café. Houve redução da mortalidade de *H. hampei* causada pela interação entre *B. bassiana* e o óleo de mamona, em função do aumento da concentração do óleo de mamona. Para concentrações mais elevadas de *B. bassiana* observou-se menor interferência do óleo de mamona. Mediante os resultados encontrados, o manejo de *H. hampei* pode ser realizado utilizando-se a associação entre óleo de mamona e o fungo *B. bassiana*, desde que se observe a viabilidade econômica e a concentração de ambos a ser utilizada.

Palavras-chave: *Ricinus communis*, Inseticidas botânicos, Controle biológico, Manejo fitossanitário de pragas, Cafeicultura.

**IN VIVO COMPATIBILITY BETWEEN *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN  
AND THE CASTOR OIL ON *Hypothenemus hampei* (FERRARI)**

**ABSTRACT**

Studies of the degree of *in vivo* compatibility between entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) and castor oil, are important in the preservation of this entomopathogen and consequently in maintaining the environmental balance within the agricultural system. Thus, the objective of this study was to evaluate the *in vivo* compatibility between castor oil and *B. bassiana* on the coffee berry borer. The isolate of *B. bassiana* CCA-UFES/Bb-4 was used in the concentrations of 0.0 (control);  $1 \times 10^4$ ;  $1 \times 10^5$ ;  $1 \times 10^6$  and  $1 \times 10^7$  conidia mL<sup>-1</sup>. Castor oil was used in the following concentrations: 0.0 (control); 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 and 3.0% v v<sup>-1</sup>. Total and confirmed mortality were assessed and data were submitted to analysis of variance. To check the effect of concentrations of *B. bassiana* and concentrations of castor oil, these were subjected to regression analysis, the level of 5% probability. Castor oil showed antagonistic effect on *B. bassiana* reducing mortality of coffee berry borer. There was a reduction in mortality of *H. hampei* caused by the interaction between *B. bassiana* and castor oil, function to the increased concentration of castor oil. For higher concentrations of *B. bassiana* was observed less interference from castor oil. Upon the results, the management of *H. hampei* can be performed using the association between castor oil and fungus *B. bassiana*, however, it should be noted the economic viability and the concentration of both being used.

Keywords: *Ricinus communis*, Botanical insecticides, Biological control, Integrated pest management, Coffee culture.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O café (*Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner) é o produto agrícola tropical mais exportado no mundo, com um valor anual de varejo de aproximadamente 90 bilhões de dólares (JARAMILLO et al., 2011). É também uma das commodities de maior importância para economia brasileira (OLIVEIRA et al., 2013). No entanto, a broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), é um dos fatores bióticos mais importantes que afeta negativamente a cafeicultura (VEGA et al., 2014). Essa praga provoca a destruição dos frutos, reduzindo o peso dos grãos e alterando o tipo de café, a classificação e o sabor da bebida (BATISTA et al., 2003; VEGA et al., 2009). Deste modo, estima-se que no Brasil, por ano, ocorram perdas entre 215 e 358 milhões de dólares, apenas por danos diretos (OLIVEIRA et al., 2013).

Assim, são necessários métodos de manejo eficazes para reduzir as perdas provocadas por esta praga. Entretanto, o principal método utilizado pelos agricultores, o químico, tem apresentado inúmeros problemas, tais como número insuficiente de ingredientes ativos, levando à seleção de linhagens resistentes da praga, e conseqüentemente à uma baixa eficiência desse método (SANTOS et al., 2013; MAPA, 2014). Além disso, pode causar também problemas ambientais, como a eliminação da fauna benéfica e a crescente contaminação do solo, água, atmosfera e seres vivos (SANTOS et al., 2013; MOLINA et al., 2014).

Esses problemas têm impulsionado a pesquisa por novos métodos de manejo, destacando-se o uso dos inseticidas botânicos e o controle biológico (BUSTILLO PARDEY, 2005; ISMAN & GRIENEISEN, 2014). Nos últimos 15 anos aumentou-se significativamente a busca por plantas cujos derivados apresentem atividade inseticida (ISMÁN & GRIENEISEN, 2014). Dentre essas plantas, a mamoneira (*Ricinus communis* L.) tem apresentado toxicidade a inúmeras pragas, seja pela utilização de óleo e/ou extratos ou por compostos isolados como ricinina, ácido ricinoléico e as albuminas 2S, Ric c 1 e Ric c 3 (BIGI et al., 2004; RAMOS-LÓPEZ et al., 2010; ARNOSTI et al., 2011; TOUNOU et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011; PÉREZ et al., 2012).

Dentro do controle biológico, o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) tem sido ativamente estudado como um agente de controle de *H. hampei* (NEVES & HIROSE, 2005; CRUZ et al., 2006; DALVI et al., 2011; CHANTASINGH et al., 2013). O principal interesse na utilização de *B. bassiana* é devido, principalmente, ao modo ação por contato, à ampla gama de hospedeiros, à grande variabilidade de isolados (diversidade genética) e à produção massal *in vitro* (FUXA, 1987; ALVES et al., 2008; DALVI et al., 2011). Além disso, esse fungo pode permanecer por um longo período no campo (vivendo como saprófito), ser utilizado no manejo de linhagem de insetos-praga resistentes a inseticidas, permitir a associação com outros métodos de controle e apresentar menor impacto ao ambiente, sendo considerado um método sustentável para o manejo de pragas (FUXA, 1987; TAMAI et al., 2002; ALVES et al., 2008; AMBETHGAR, 2009; DALVI et al., 2011; ISLAM & OMAR, 2012).

Apesar dos fungos entomopatogênicos permitirem a associação com outros métodos de manejos, é necessário que se estude o grau de compatibilidade entre esses, uma vez que a interação pode ser aditiva, sinérgica ou antagônica (ISLAM & OMAR, 2012). Além de teste de compatibilidade *in vitro*, os testes *in vivo* também são importantes, visto que durante processo de infecção no inseto, inúmeros fatores podem estar envolvidos e afetar a interação entre os métodos (FANG et al., 2005; MOHAN et al., 2007; ISLAM et al., 2010a; PEDRINI et al., 2010; RONDELLI et al., 2011; ZHANG et al., 2012). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade *in vivo* entre o óleo de mamona e *B. bassiana* sobre a broca-do-café.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado 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.

#### 4.2.1 Criação e manutenção de *H. hampei*

A criação e manutenção da broca-do-café foram realizadas em sala climatizada à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa (UR) de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h. Para isso, foram coletados a campo frutos de café brocados de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner, no município de Jerônimo Monteiro - ES (latitude:  $-20^{\circ} 47' 22''$  e longitude:  $-41^{\circ} 23' 42''$ ). Posteriormente, foram lavados com solução de Hipoclorito de Sódio (NaClO) a 5% v v<sup>-1</sup> utilizando água como solvente, para evitar a proliferação de eventuais contaminantes. Em seguida foram enxaguados em água corrente e expostos em ambiente ventilado, sem exposição direta à luz solar, por 24 horas. Os frutos brocados foram acondicionados em caixas plásticas (15 x 30 x 5 cm) com tampa. Para possibilitar as trocas gasosas, nas tampas foram feitas aberturas vedadas com tecido "voal". 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, se deslocassem para a extremidade livre para coleta. A coleta dos insetos foi feita com succionador de insetos pequenos adaptado a uma bomba-de-vácuo.

Para a continuação da criação, os insetos coletados foram colocados em contato com grãos sadios de café na proporção de uma broca por grão, em recipientes plásticos do tipo gerbox<sup>®</sup> quadrado (10 x 10 x 4 cm) com tampa. Esses recipientes continham 200 grãos de café, da espécie *C. canephora*, previamente lavados com NaClO a 5% v v<sup>-1</sup> por 1 minuto e enxaguados em água corrente. Os recipientes foram tampados com tecidos pretos para proporcionar condições adequadas para reprodução. Periodicamente, foi borrifada água destilada para a manutenção da umidade dos grãos (45%).

#### 4.2.2 Obtenção e produção de *B. bassiana*

Foi utilizado o isolado CCA-UFES/Bb-4 proveniente da coleção do Banco de Entomopatógenos do CCA-UFES, o qual foi previamente avaliado em estudos anteriores que comprovaram sua virulência à broca-do-café (DALVI et al., 2011).

Para ter certeza da patogenicidade e virulência, o isolado foi revigorado 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 climatizada à temperatura de  $25 \pm 1$  °C, UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h, onde permaneceram por dez dias.

#### 4.2.3 Extração do óleo de mamona

As sementes da variedade IAC 80 da planta *R. communis* foram adquiridas junto ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). A extração do óleo foi feita utilizando o método de prensagem a frio. O óleo de mamona foi armazenado em recipiente recoberto com papel alumínio e hermeticamente fechado.

#### 4.2.4 Compatibilidade entre o óleo de mamona e *B. bassiana*

Os experimentos foram conduzidos em câmara climatizada a  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  (condição essa necessária para experimentos com fungos entomopatogênicos que necessitam de alta umidade) e fotofase de 12h. Para avaliar a compatibilidade, as suspensões do isolado de *B. bassiana* foram ajustadas nas seguintes concentrações: 0,0 (controle),  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^7$  conídios mL<sup>-1</sup>. Enquanto que as concentrações do óleo de mamona foram as seguintes: 0,0 (controle), 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0% v v<sup>-1</sup>. Assim sendo, a associação das concentrações do fungo e do óleo de mamona correponderam a 35 tratamentos. Na preparação das suspensões foi utilizado espalhante adesivo (Tween® 80 PS; Empresa: Dinâmica Química Contemporânea LTDA, Diadema, SP) a 0,05% v v<sup>-1</sup>.

As unidades experimentais foram constituídas por caixa de acrílico (gerbox®) (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura) forrada com papel filtro e contendo 15 fêmeas adultas de *H. hampei*. A pulverização sobre as fêmeas da broca-do-café foi realizada com

auxílio de Torre de Potter® à pressão de 15 libras pol<sup>-2</sup>, aplicando-se um volume de 5,5 mL por repetição. Desta forma, com a pressão e o volume utilizados na Torre de Potter® foi depositado um volume médio de 1,78 mg cm<sup>-2</sup>, variando de 1,43 a 2,08 mg cm<sup>-2</sup>, estando de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (“International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section”), que é um depósito de 1,5 a 2,0 mg cm<sup>-2</sup> para superfícies de vidro ou folha (OVERMEER & VAN ZON, 1982). Após a pulverização foi oferecido como alimento 0,15 gramas de café moído/gerbox®.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial 5 x 7 (concentrações de *B. bassiana* x concentrações do óleo de mamona), sendo cada tratamento constituído de 5 repetições. A avaliação da mortalidade foi realizada diariamente até o sétimo dia e os indivíduos mortos foram transferidos para câmaras úmidas para confirmação do agente etiológico. A câmara úmida foi constituída por caixa de acrílico (gerbox®) (6 cm de diâmetro x 2 cm de altura), na qual foi colocada um chumaço de algodão umedecido na tampa e identificada de acordo com o tratamento e a repetição. Após 10 dias foram examinados os cadáveres para verificar a presença ou não do fungo. Os dados de mortalidade total e mortalidade confirmada foram submetidos à análise de variância e, para verificar o efeito das concentrações de *B. bassiana* e das concentrações do óleo de mamona, foram submetidos à análise de regressão, ao nível de 5% de probabilidade. Para os resultados que se ajustaram ao modelo hiperbólico foram determinados os pontos de máxima mortalidade. A partir destes dados foi determinada a concentração para obter 90% do ponto de máxima mortalidade, de acordo com equações abaixo:

$$X = (\beta_1 * (0,9 * PMM)) / (PMM - (0,9 * PMM))$$

$\beta_1$  = parâmetro estimado; PMM = ponto de máxima mortalidade.

Também foi realizada a análise de regressão, adotando-se a metodologia de superfície de resposta a partir do modelo hiperbólico com duas variáveis independentes, dado por:

$$Z = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_1^2 + \beta_3 X_1 Y_1) / (\beta_4 + X_1)$$

$Z$  = Parâmetro analisado (mortalidade total);  $X_1$  = Concentração de *B. bassiana*;  $Y_1$  = Concentração do óleo de mamona;  $\beta_i$ , com  $i$  variando 0 a 4 = parâmetros estimados.

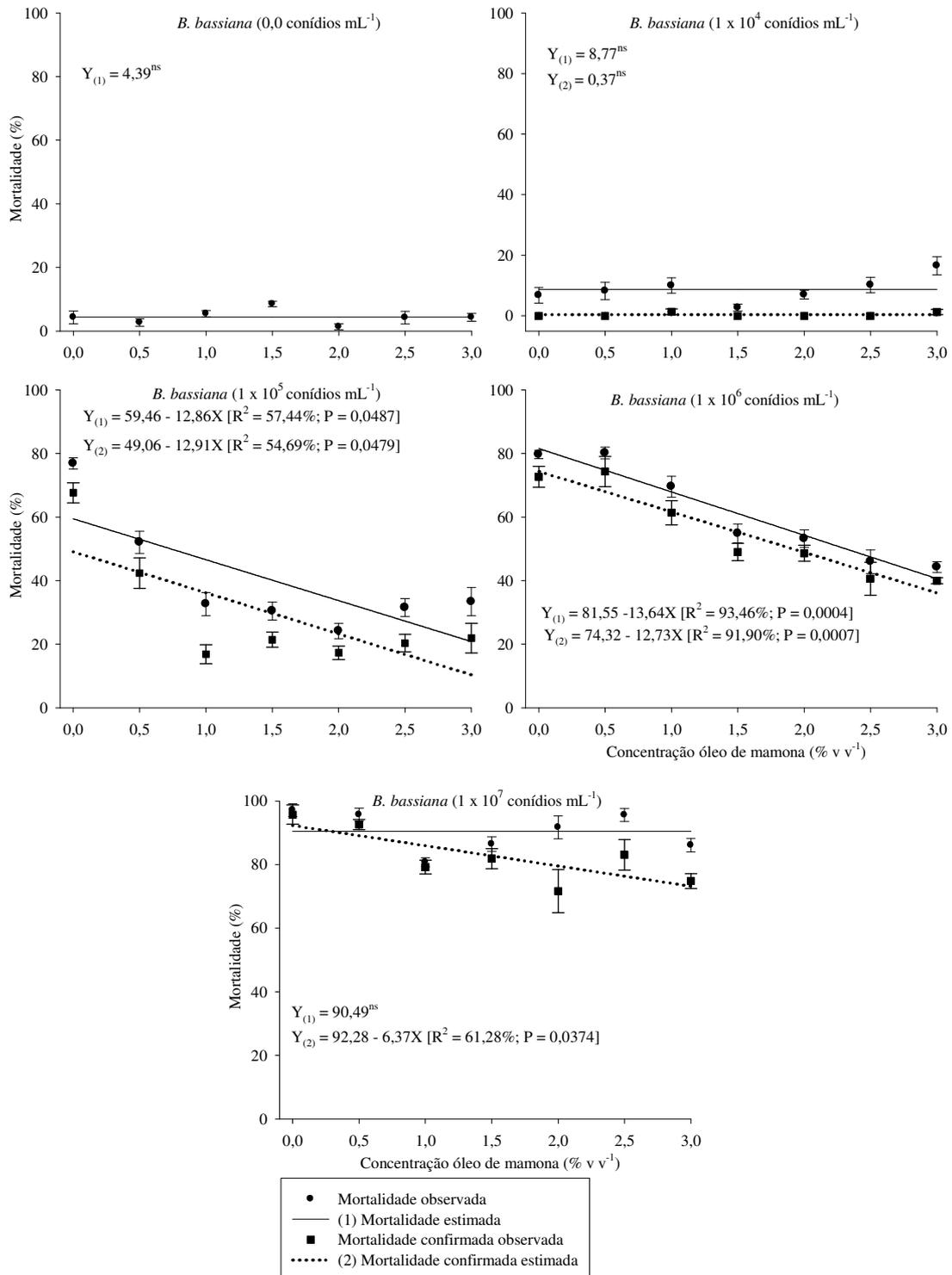
O modelo apresentado acima foi escolhido com base na equação que melhor se ajustou aos dados, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e na significância dos betas ( $\beta$ ) e da regressão pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste bioensaio apresentaram interação entre os fatores concentração de *B. bassiana* e concentração do óleo de mamona sobre a mortalidade total e confirmada da broca-do-café ( $F_{24:174} = 8,54$ ;  $P > 0,0001$  e  $F_{24:174} = 5,47$ ;  $P > 0,0001$ ) (Figura 1, Figura 2).

As mortalidades total e confirmada da broca-do-café, para as concentrações de 0,0 e  $1 \times 10^4$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  de *B. bassiana*, não se ajustaram a nenhum modelo, mantendo-se constantes em função das concentrações do óleo de mamona (Figura 1). No entanto, para as concentrações de  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , as mortalidades total e confirmada de *H. hampei* ajustaram-se ao modelo linear ( $R^2 = 57,44\%$ ;  $P = 0,0487$  e  $R^2 = 93,46\%$ ;  $P = 0,0004$ ;  $R^2 = 54,69\%$ ;  $P = 0,0479$  e  $R^2 = 91,90\%$ ;  $P = 0,0007$ , respectivamente), onde constatou-se redução da mortalidade em função do aumento da concentração do óleo de mamona (Figura 1). Contudo, apesar de essas concentrações de *B. bassiana* apresentarem o mesmo comportamento para a mortalidade total e confirmada de *H. hampei* em função das concentrações do óleo de mamona, observa-se maior valor de intercepto para a concentração de  $1 \times 10^6$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , ou seja, maior mortalidade (Figura 1). Diferente das concentrações anteriores, para a concentração de  $1 \times 10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  de *B. bassiana*, a mortalidade total da broca-do-café não se ajustou a um modelo, mantendo se constante em função das concentrações do óleo de mamona, com mortalidade média total de 90,49% (Figura 1). Entretanto, a mortalidade confirmada para esta concentração ajustou-se ao modelo linear ( $R^2 = 61,28\%$ ;  $P = 0,0374$ ), havendo redução da mortalidade em função do aumento da concentração do óleo de mamona (Figura 1). Quando comparada essa mortalidade confirmada com a

apresentada pelas concentrações de  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , observa-se um coeficiente angular bem inferior, o que reporta uma menor influência do óleo de mamona na mortalidade de *H. hampei* em concentrações mais elevada do fungo (Figura 1).



**Figura 1.** Mortalidade de *Hypothenemus hampei* causada pela interação entre *Beauveria bassiana* e óleo de mamona em diferentes concentrações, a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

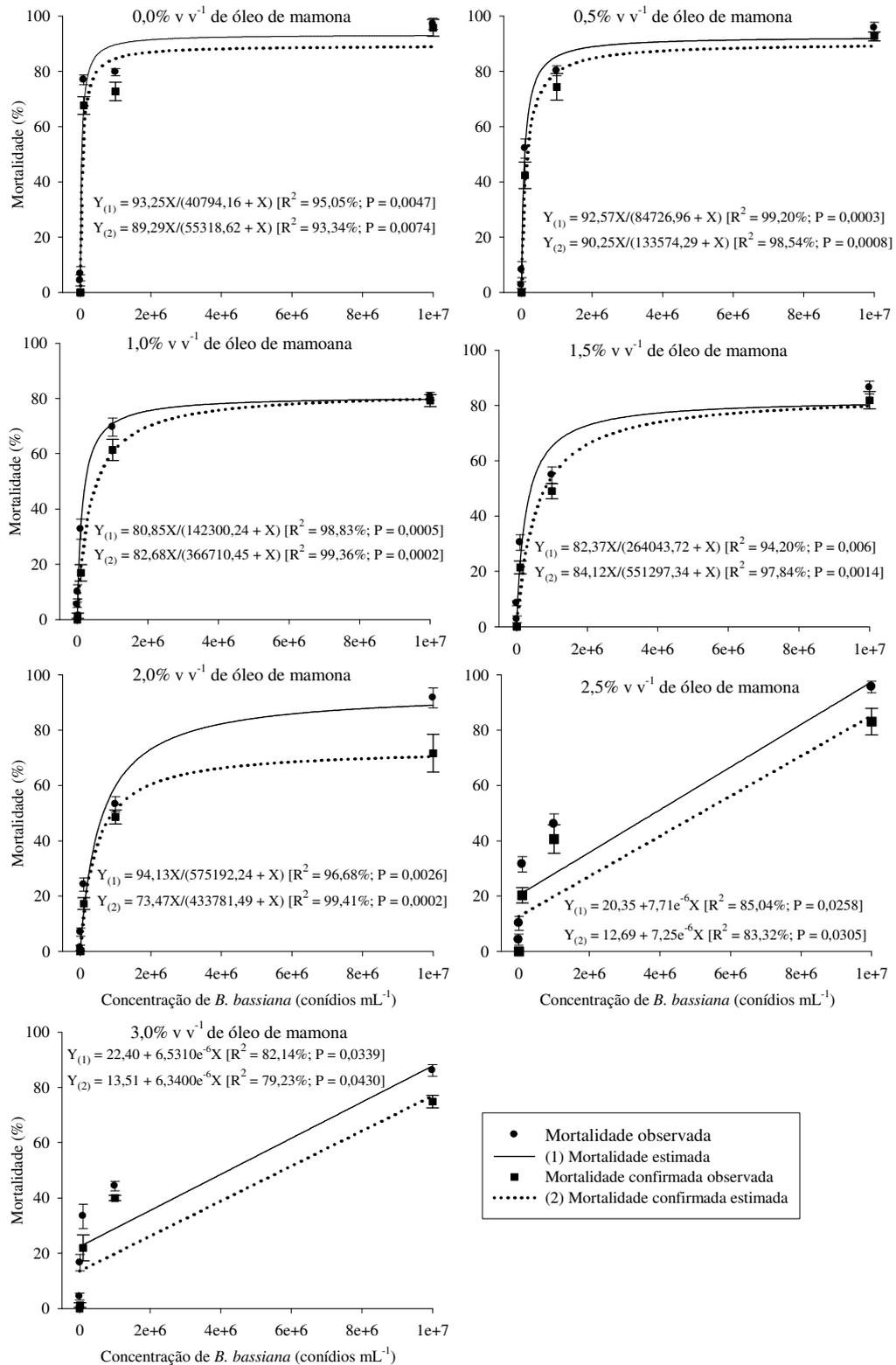
A baixa mortalidade apresentada pelo óleo de mamona na ausência de *B. bassiana* provavelmente está correlacionada à alta umidade relativa necessária à montagem de experimento com fungos entomopatogênicos. Acredita-se que isso tenha contribuído para aumentar a formação de gotículas, impedindo o recobrimento da fêmea da broca-do-café pelo óleo. Aliado a esse fato e de que a provável ação do óleo de mamona seja por recobrimento dos espiráculos e/ou traqueias causando a morte do inseto por asfixia, a umidade relativa pode ter influenciado diretamente a ação desse óleo sobre a mortalidade da broca-do-café.

Apesar de os derivados da mamona apresentarem atividade inseticida sobre alguns insetos-praga (BIGI et al., 2004; RAMOS-LÓPEZ et al., 2010; ARNOSTI et al., 2011; TOUNOU et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011; PÉREZ et al., 2012), ainda são poucos os estudos que avaliam a interação entre esses e fungos entomopatogênicos. No entanto, Rondelli et al. (2011) verificaram que quando foi adicionado óleo de mamona a 2% v v<sup>-1</sup> as suspensões do isolado ESALQ-447 e do formulado Boveril® PM (isolado ESALQ-PL63) (Empresa: KOPPERT, Itapetininga, SP) na concentração de 3 x 10<sup>5</sup> conídios mL<sup>-1</sup>, a mortalidade de larvas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) foram significativamente maiores comparado à utilização desses métodos de forma isolada, resultado oposto ao observado neste trabalho. Apesar do aumento na mortalidade apresentada pelo isolado ESALQ-447, relatada anteriormente em teste de compatibilidade *in vitro*, o óleo de mamona nas concentrações de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0% v v<sup>-1</sup> foi moderadamente tóxico a esse isolado (CELESTINO, 2011). De maneira oposta, o isolado de *B. bassiana* CCA-UFES/Bb-4, cujo óleo de mamona foi moderadamente tóxico apenas na concentração de 3,0% v v<sup>-1</sup> (CELESTINO, 2011), no teste *in vivo* esse óleo afetou negativamente o desempenho do fungo sobre a mortalidade de *H. hampei*, em concentrações abaixo de 1 x 10<sup>7</sup> conídios mL<sup>-1</sup> (Figura 1). Entretanto, quando se aumentou a concentração do fungo, ou seja, quantidade de inóculo, não houve interferência na mortalidade total da broca-do-café; e na mortalidade confirmada, apesar de ter havido redução, foi bem menos significativa do que a apresentada em concentrações menores do fungo. Tal fato possibilita a utilização desses métodos de manejo em associação desde que se observe a concentração de ambos a ser utilizada. Sendo assim, faz-se necessária uma avaliação a campo para determinar a eficiência desses métodos em função das condições climáticas locais, o que

possibilitará uma melhor análise da relação entre aumento da concentração do fungo, interação com óleo de mamona e eficiência de controle da broca-do-café.

Analisando a mortalidade total e confirmada da broca-do-café a partir das concentrações do óleo de mamona em função das concentrações de *B. bassiana*, observou-se que para as concentrações 0,0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0% v v<sup>-1</sup> de óleo de mamona, as mortalidades ajustaram-se ao modelo hiperbólico ( $R^2 = 95,05\%$ ;  $P = 0,0047$  e  $R^2 = 93,34\%$ ;  $P = 0,0074$ ;  $R^2 = 99,20\%$ ;  $P = 0,0003$  e  $R^2 = 98,54\%$ ;  $P = 0,0008$ ;  $R^2 = 98,83\%$ ;  $P = 0,0005$  e  $R^2 = 99,36\%$ ;  $P = 0,0002$ ;  $R^2 = 94,20\%$ ;  $P = 0,0060$  e  $R^2 = 97,84\%$ ;  $P = 0,0014$ ;  $R^2 = 96,68\%$ ;  $P = 0,0026$  e  $R^2 = 99,41\%$ ;  $P = 0,0002$ , respectivamente), em que a mortalidade tende a aumentar em função das concentrações de *B. bassiana* até atingir determinado ponto e a partir deste, o aumento na mortalidade é pouco significativo e praticamente constante (Figura 2). No entanto, para as concentrações mais altas do óleo de mamona, 2,5 e 3,0% v v<sup>-1</sup>, as mortalidades total e confirmada ajustaram-se ao modelo linear ( $R^2 = 85,04\%$ ;  $P = 0,0258$  e  $R^2 = 83,32\%$ ;  $P = 0,0305$ ;  $R^2 = 82,14\%$ ;  $P = 0,0339$  e  $R^2 = 79,23\%$ ;  $P = 0,0430$ , respectivamente), apresentando aumento da mortalidade de *H. hampei* em função do aumento da concentração de *B. bassiana* (Figura 2).

Para as concentrações que se ajustaram ao modelo hiperbólico é possível determinar a concentração do óleo que confere máxima mortalidade da broca-do-café (Tabela 1). Por determinação estatística observou-se que para as concentrações de 0,0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0% v v<sup>-1</sup> de óleo de mamona a concentração de  $1 \times 10^7$  conídios mL<sup>-1</sup> de *B. bassiana* foi a que conferiu máxima mortalidade total e confirmada, sendo 93,25 e 89,29; 92,57 e 90,25; 80,85 e 82,68; 82,37 e 84,12; 94,13 e 73,47, respectivamente (Tabela 1). Além da inferência anterior, determinou-se a concentração de *B. bassiana* necessária para atingir 90% da máxima mortalidade da broca-do-café, onde observou-se reduções na concentração de até 27,24 vezes para mortalidade total e 20,09 vezes para mortalidade confirmada na ausência do óleo de mamona (Tabela 1). A partir dos resultados obtidos pode-se determinar a viabilidade econômica de uma determinada concentração em função da redução na mortalidade e redução na concentração de *B. bassiana* (Tabela 1). Tomando-se como base o nível de dano econômico pode-se trabalhar os resultados visando obter a melhor resposta econômica para manejo da broca-do-café.



**Figura 2.** Mortalidade de *Hypothenemus hampei* causada pela interação entre óleo de mamona e *Beauveria bassiana* em diferentes concentrações, a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

Diferente do óleo de mamona que demonstrou antagonismo a *B. bassiana* no controle da broca-do-café, o óleo de nim, apesar de haver relatos de efeitos

fungitóxicos *in vitro* a *B. bassiana* (DEPIERI et al., 2005; MORAN et al., 2007; ARAUJO JR. et al., 2009; ISLAM et al., 2010a), quando aplicado associado a esse fungo, apresentou maior ação ovicida sobre ovos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) e reduziu o tempo letal (TL<sub>50</sub>) da mortalidade de ninfas (ISLAM et al., 2010b). No entanto, a variabilidade genética de *B. bassiana* pode influenciar na interação deste fungo com óleo de nim (MOHAN et al., 2007). Uma vez que, quando o formulado Margoside® a 0,3% v v<sup>-1</sup> (Ingrediente ativo: 0,15% azadiractina; Empresa: M/s Monofix Agroproducts Ltd, Hubli, India) foi associado a *B. bassiana*, foram observados efeitos aditivos e antagônicos sobre a mortalidade de lagartas de *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) em função do isolado do fungo utilizado (MOHAN et al., 2007). Assim, estudos de compatibilidade *in vivo* com outros isolados de *B. bassiana* devem ser realizados, pois é possível que haja isolados menos sensíveis à ação do óleo de mamona.

**Tabela 1.** Determinação de pontos de máxima e 90% da máxima mortalidade e respectivas concentrações, para equações hiperbólicas (Figura 2).

COM <sup>1</sup>	PMM <sup>2</sup>	CBb <sup>3</sup>	90% PMM <sup>4</sup>	CBb <sup>3</sup>	RM <sup>5</sup>	RC <sup>6</sup>
Mortalidade Total						
0,0	93,25	1 x10 <sup>7</sup>	83,93	3,67 x10 <sup>5</sup>	9,32	27,24
0,5	92,57	1 x10 <sup>7</sup>	83,13	7,62 x 10 <sup>5</sup>	9,44	13,11
1,0	80,85	1 x10 <sup>7</sup>	72,77	1,28 x 10 <sup>6</sup>	8,08	7,81
1,5	82,37	1 x10 <sup>7</sup>	74,13	2,38 x 10 <sup>6</sup>	8,24	4,21
2,0	94,13	1 x10 <sup>7</sup>	84,72	5,18 x 10 <sup>6</sup>	9,41	1,93
Mortalidade Confirmada						
0,0	89,29	1 x10 <sup>7</sup>	80,36	4,98 x 10 <sup>5</sup>	8,93	20,09
0,5	90,25	1 x10 <sup>7</sup>	81,23	1,20 x 10 <sup>6</sup>	9,02	8,32
1,0	82,68	1 x10 <sup>7</sup>	74,41	3,30 x 10 <sup>6</sup>	8,27	3,03
1,5	84,12	1 x10 <sup>7</sup>	75,71	4,96 x 10 <sup>6</sup>	8,41	2,02
2,0	73,47	1 x10 <sup>7</sup>	66,12	3,90 x 10 <sup>6</sup>	7,35	2,56

<sup>1</sup>Concentração de óleo de mamona.

<sup>2</sup>Ponto de máxima mortalidade.

<sup>3</sup>Concentração de *Beauveria bassiana* (conídios mL<sup>-1</sup>).

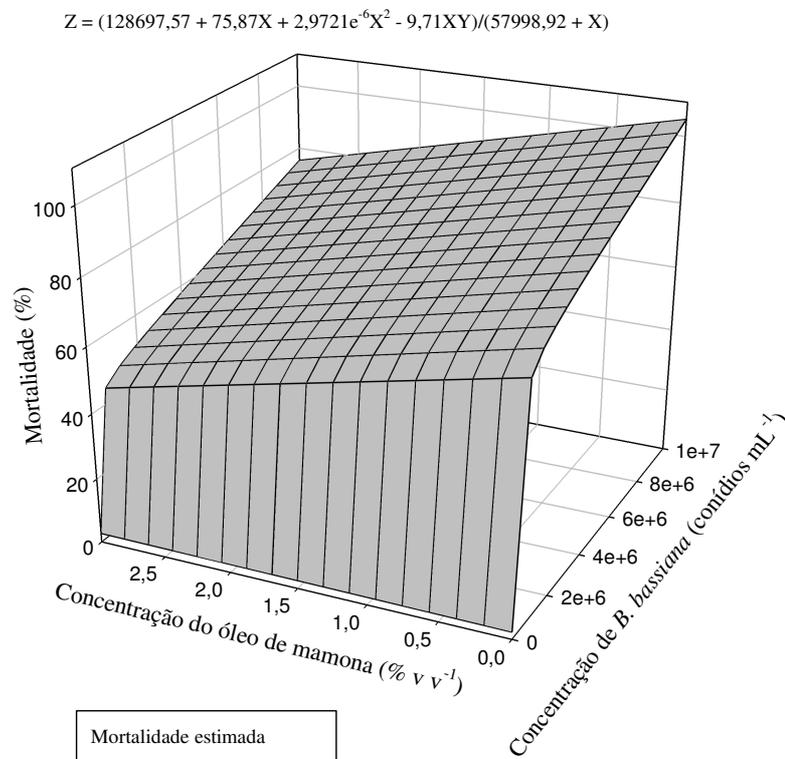
<sup>4</sup>90% da máxima mortalidade.

<sup>5</sup>Redução na mortalidade.

<sup>6</sup>Redução na concentração (conídios mL<sup>-1</sup>).

Os dados também foram analisados por superfície de resposta, para que se obtivesse uma função onde, a partir de concentrações do óleo de mamona e de concentrações de *B. bassiana*, poderia ser estimada a mortalidade da broca-do-café causada pela interação (Figura 3). O modelo proposto foi  $Z = (128697,57 + 75,87X$

+  $2,9721e^{-6}X^2 - 9,71XY)/(57998,92 + X)$ , em que observa-se os efeitos linear, quadrático, da interação e hiperbólico (Figura 3). Assim, é possível verificar que ao aumentar a concentração do óleo de mamona reduz-se a mortalidade da broca-do-café independentemente da concentração de *B. bassiana* (Figura 3). Também constata-se que ao aumentar a concentração do fungo reduz-se os efeitos provocados pelo óleo de mamona (Figura 3). Além disso, fica evidente que a mortalidade de *H. hampei* causada por *B. bassiana* na ausência do óleo de mamona é superior do que quando adicionado o óleo na suspensão (Figura 3).



**Figura 3.** Modelo de superfície de resposta para mortalidade de *Hypothenemus hampei* causada pela interação entre óleo de mamona e *Beauveria bassiana*, a  $25 \pm 1$  °C, UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

Assim sendo, os testes de compatibilidade entre produtos fitossanitários e fungos entomopatogênicos são ferramentas indispensáveis ao manejo fitossanitário de pragas, contribuindo para a preservação destes patógenos e, conseqüentemente, mantendo o equilíbrio ambiental dentro do sistema agrícola (SILVA et al., 2005; ROSSI-ZALAF et al., 2008). A compatibilidade entre óleos vegetais e fungos entomopatogênicos apresentou algumas vantagens, pois podem ser certificados e utilizados em cultivos orgânicos; geralmente são mais viscosos e, por isso, dão

maior adesividade à superfície dos insetos e plantas; não são inflamáveis e, por isso, são mais seguros; conferem certa proteção aos esporos contra a radiação ultravioleta e evaporam menos que óleos minerais (ALVES & FARIA, 2010). Desta forma, pesquisas dessa natureza são importantes ao direcionamento de futuros estudos visando à utilização de óleo vegetais na formulação de fungos entomopatogênicos.

#### 4.4 CONCLUSÃO

- Óleo de mamona apresentou efeito antagônico sobre *B. bassiana* reduzindo a mortalidade da broca-do-café.
- Houve redução da mortalidade de *H. hampei* causada pela interação entre *B. bassiana* e o óleo de mamona, em função do aumento da concentração do óleo de mamona.
- Para concentrações mais elevadas de *B. bassiana* observou-se menor interferência do óleo de mamona.
- Mediante os resultados encontrados, o manejo de *H. hampei* pode ser realizado utilizando-se a associação entre óleo de mamona e o fungo *B. bassiana*, desde que se observe a viabilidade econômica e a concentração de ambos a ser utilizada.

#### 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, 2008.

ALVES, R.T.; FARIA, M. Pequeno manual sobre fungos entomopatogênicos. **Documento 286**, Planaltina: Embrapa Cerrados, 50p. 2010.

AMBETHGAR, V. Potential of entomopathogenic fungi in insecticide resistance management (IRM): A review. **Journal of Biopesticides**, Palayamkottai, v.2, n.2, p.177-193. 2009.

ARAUJO JR, J.M. DE; MARQUES, E.J.; OLIVEIRA, J.V. DE. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.38, n.4, p.520-525. 2009.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, P.D.; FURQUIM, K.C.S.; CHIERICE, G.O.; BECHARA, G.H.; CALLIGARIS, I.B.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Effects of ricinoleic acid esters from castor oil of *Ricinus communis* on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. **Experimental Parasitology**, Berlin, v.127, n.2, p.575-580. 2011.

BATISTA, L.R.; CHALFOUN, S.M.; PRADO, G.; SCHWAN, R.F.; WHEALS, A.E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.85, n.3, p.293-300. 2003.

BIGI, M.F.M.A.; TORKOMIAN, V.L.V.; GROOTE, S.T.C.S.; HEBLING, M.J.A.; BUENO, O.C.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic

*fungus Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, Malden, v.60, n.9, p.933-938. 2004.

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.

CELESTINO, F.N. **Potencial do óleo de mamona e associação com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin visando o manejo da broca-do-café**. Alegre, 2011. Dissertação de mestrado, PPGPV/UFES.

CRUZ, L.P.; GAITAN, A.L.; GONGORA, C.E. Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Münster, v.71, n.6, p.918-926. 2006.

CHANTASINGH, D.; KITIKHUN, S.; KEYHANI, N.O.; BOONYAPAKRON, K.; THOETKIATTIKUL, H.; POOTANAKIT, K.; EURWILAICHITR, L. Identification of catalase as an early up-regulated gene in *Beauveria bassiana* and its role in entomopathogenic fungal virulence. **Biological Control**, San Diego, v.67, n.2, p.85-93. 2013.

DALVI, L.P.; PRATISSOLI, D.; POLANCZY, R.A.; ANDRADE, G.S. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) for the control of the coffee borer beetle *Hypothenemus hampei* (Scolytinae) in Brazil. **Biological Letters**, Poznań, v.48, n.1, p.39-46. 2011.

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.

FANG, W.; LENG, Y.; XIAO, Y.; JIN, K.; MA, J.; FAN, Y.; FENG, J.; YANG, X.; ZHANG, Y.; PEI, Y. Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene Bbchit1 and its application to improve fungal strain virulent. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.71, n.1, p.363–370. 2005.

FUXA, J.R. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.32, n.1, p.225-251. 1987.

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. 2010a.

ISLAM, M.T.; CASTLE, S.J.; REN, S. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.134, n.1, p.28–34. 2010b.

ISLAM, M.T.; OMAR, D.B. Combined effect of *Beauveria bassiana* with neem on virulence of insect in case of two application approaches. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, Lahore, v.22, n.1, p.77-82. 2012.

ISMAN, M.B.; GRIENEISEN, M.L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in Plant Science - Cell Press**, Cambridge, v.19, n.3, p.140-145. 2014.

JARAMILLO, J.; MUCHUGU, E.; VEGA, F.E.; DAVIS, A.; BORGEMEISTER, C.; CHABI-OLAYE, A. Some Like It Hot: The Influence and Implications of Climate Change on Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) and Coffee Production in East Africa. **PLoS ONE**, v.6, n.9, p.e24528. 2011.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **AGROFIT**. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 12 jul. 2014.

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.

MOLINA, D.; PATIÑO, L.; QUINTERO, M.; CORTES, J.; BASTOS, S. Effects of the aspartic protease inhibitor from *Lupinus bogotensis* seeds on the growth and

development of *Hypothenemus hampei*: An inhibitor showing high homology with storage proteins. **Phytochemistry**, Pullman, v.98, p.69-77. 2014.

NASCIMENTO, V.V. DO; CASTRO, H.C.; ABREU, P.A.; ELENIR, A.; OLIVEIRA, A.; FERNANDEZ, J.H.; SILVA ARAÚJO, J. DA; MACHADO, O.L.T. In silico structural characteristics and  $\alpha$ -amylase inhibitory properties of Ric c 1 and Ric c 3, allergenic 2S albumins from *Ricinus communis* seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.59, n.9, p.4814-4821. 2011.

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.

OLIVEIRA, C.M.; AUAD, A.M.; MENDES, S.M.; FRIZZAS, M.R. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v.137, n.1-2, p.1-15. 2013.

OVERMEER, W. P. J.; VAN ZON, A. Q. A standardized method for testing the side effect of pesticides on the predaceous mite, *Amblyseius potentillae* (Acari: Phytoseiidae). **Entomophaga**, Nice, v.27, n.4, p.357- 364. 1982.

PEDRINI, N.; ZHANG, S.; JUAREZ, M.P.; KEYHANI, N.O. Molecular characterization and expression analysis of a suite of cytochrome P450 enzymes implicated in insect hydrocarbon degradation in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Microbiology**, Paris, v.156, n.8, p.2546–2557. 2010.

PÉREZ, Y.O.; ZAYAS, D.V.; VILLA, O.V.; PUENTES, R.A.; GARCÍA, S.T. Aplicación de extractos de hojas de *Ricinus communis* L. en el control de la Broca del cafeto. **Centro Agrícola**, Villa Clara, v.39, n.1, p.85-90. 2012.

RAMOS-LÓPEZ, M.A.; PÉREZ G.S.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, C.; GUEVARA-FEFER, P.; ZAVALA-SÁNCHEZ, M.A. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, Bowie, v.9, n.9, p.1359-1365. 2010.

RONDELLI, V.M.; PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; MARQUES, E.J.; STURM, G.M.; TIBURCIO, M.O. Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no

controle da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.2, p.212-214. 2011.

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.

SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; SILVA, A.G.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; FACUNDO, V.A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.4, p.757-762. 2013.

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

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.

TOUNOU, A.K.; GBÉNONCHI, M.; SADATE, A.; KOMI, A.; DIEUDONNÉ, G.Y.M.; KOMLA, S. Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. **Journal of Applied Biosciences**, Grahamstown, v.43, n.3, p.2899-2914. 2011.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, Washington, v.2, n.2, p.129-147. 2009.

VEGA, F.E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; KRAMER, M.; LAND, M.F. On the Eyes of Male Coffee Berry Borers as Rudimentary Organs. **PLoS ONE**, San Francisco, v.9, n.1, p.858-860. 2014.

ZHANG, S.; WIDEMANN, E.; BERNARD, G.; LESOT, A.; PINOT, F.; PEDRINI, N.; KEYHANI, N.O. CYP52X1, representing new cytochrome P450 subfamily, display fatty acid hydroxylase activity and contributes to virulence and growth on insect cuticular substrates in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v.287, n.16, p.13477–13486. 2012.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), é a principal praga da cafeicultura. O manejo dessa praga tem influência direta na qualidade final e, conseqüentemente, no valor do produto. Devido ao reduzido número de princípios ativos e aos impactos ambientais causados pelos inseticidas químicos sintéticos, novas alternativas para o manejo da broca-do-café têm sido uma necessidade crescente na cafeicultura. Métodos de manejo que minimizem os impactos causados por esses inseticidas, tais como os inseticidas botânicos e o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, são importantes para essa praga. No entanto, para que as pesquisas possam ser desenvolvidas é necessária uma técnica de criação adequada para *H. hampei*, sendo esse um dos objetivos deste trabalho. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a melhor técnica para criação da broca-do-café é em café robusta em coco, sem a necessidade de qualquer processo de assepsia, podendo ser armazenado em freezer a -20 °C para ser utilizado durante a entressafra. Também foi avaliada a eficiência de inseticidas botânicos, óleos minerais e o inseticida contendo azadiractina (ICA) para o controle da broca-do-café. Com base nos estudos de atividade inseticida, o ICA (3,0% v v<sup>-1</sup>) e o óleo de mamona (3,0% v v<sup>-1</sup>) causaram 40,8 e 53,7% de mortalidade da broca-do-café, respectivamente. O extrato da torta da semente de mamona não apresentou toxicidade sobre *H. hampei*. O óleo de mamona causou a mortalidade da broca-do-café, sendo provavelmente devido ao bloqueio dos espiráculos, impedindo a respiração desse inseto. Visando a utilização associada do óleo de mamona e do fungo *B. bassiana* para o manejo da broca-do-café, avaliou-se a compatibilidade *in vivo* desses dois métodos de controle. A partir desse bioensaio, verificou-se efeito antagônico do óleo de mamona sobre *B. bassiana*, reduzindo a mortalidade da broca-do-café. Houve redução da mortalidade de *H. hampei* causada pela interação entre *B. bassiana* e o óleo de mamona, em função do aumento da concentração do óleo de mamona. Para concentrações mais elevadas de *B. bassiana* observou-se menor interferência do óleo de mamona. Mediante os resultados encontrados, o manejo de *H. hampei* pode ser realizado utilizando-se a associação entre óleo de mamona e o fungo *B. bassiana*, desde que se observe a viabilidade econômica e a concentração de ambos.