

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CANDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA**

**ANA PAULA MAMPRIM**

**Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.**

**Marechal Cândido Rondon  
2011**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CANDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA**

**ANA PAULA MAMPRIM**

**Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Mestrado, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Luis Francisco Angeli Alves.

Co – orientador: Dr.<sup>a</sup> Fabiana G. da S. Pinto

**Marechal Cândido Rondon**  
**2011**

A DEUS por me conduzir sempre no caminho certo,  
**AGRADEÇO**

Aos meus pais Antonio C. Mamprim e Isabel C. M. Mamprim,  
pelo apoio, incentivo, confiança e dedicação,  
a quem devo minha educação e formação  
**OFEREÇO**

Ao meu filho Pedro M. Martins  
Amor verdadeiro, meu maior tesouro,  
Por saber compreender os momentos de ausência.  
**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná e ao Programa de Pós Graduação em Agronomia (PPGA), pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao Orientador Professor Luis Francisco Angeli Alves pela orientação, amizade, confiança e ensinamentos transmitidos.

À Professora Fabiana G. da S. Pinto pela co-orientação, amizade, conhecimentos de pesquisa transferidos e colaboração para minha formação profissional.

Ao Professor José Renato Stangarlin e à Professora Vanda Pietrowski pelos artigos e conhecimentos cedidos.

A Professora Tereza Cristina por ter cedido o laboratório de Farmacognosia assim como os equipamentos para obtenção dos extratos vegetais.

À Fundação Parque Tecnológico Itaipu (PTI), pela concessão da bolsa de estudos.

À Andréia K. Bonini (Boni), pelo auxílio permanente e indispensável na elaboração dos experimentos e análises estatísticas, pelas conversas, pelos cafés e chás, pelas risadas e principalmente pela amizade e paciência.

À professora Andréa Fortes, pela amizade e confiança depositadas, quando me ajudou a buscar pelos meus sonhos, muito obrigada.

Aos meus queridos amigos de laboratório Marina, que muito me ajudou no início dos experimentos com dicas e sugestões, à Rafaela e Emanuele pela ajuda nas contagens de contídios, também aos amigos Silvana, Talita, Roger, Daian, Victor e também os amigos que já passaram por este laboratório Aline, Elisângela, Patrícia, Jéssica, Nicole, Louise, Daliana,, Dhyego, Leonardo, Luis Paulo, Jean, Everton e Michele e aos amigos da Micro, Laís, Thomas, Eliana, Marinêz, Mayara e Camila, pelo companheirismo, risadas, e acima de tudo pela amizade conquistada.

Ao meu amigo André, pelas conversas, desabafos, risadas, nas idas e vindas de Marechal, pela companhia nos cafezinhos da Unixeroz, mas principalmente pela grande amizade construída.

Aos meus amigos do Mestrado Juliana, Adeline, Rosi, Dionéia, Tatiana, Viviane, Deisi, Cris e a todos que estiveram do meu lado nestes dois anos, e principalmente a Luciana, mais que uma amiga, uma irmã, que muitas vezes me ouviu e aconselhou, e por todas as vezes que abriu as portas de sua casa pra me dar pouso, obrigada.

À Jéssica, Heloisa, Chariane e ao Neimar, pelas conversas, tereres, pipoca, chimarrão, filmes, idas para o shopping, desabafos, risadas, bafões e principalmente pela paciência com a chata aqui.

Às minhas irmãs Carol e Cris, pela amizade e apoio em todos os momentos, e principalmente por ajudar a cuidar do Pedro, amo vocês.

Ao Claudedir, pelo auxílio na condução deste trabalho, pela amizade, e pelas palavras de conforto em cada experimento fracassado, meu muito obrigada.

E a todos aqueles que não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram na realização desse trabalho.

## RESUMO

**Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.** O objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade dos extratos vegetais aquosos e alcoólicos e de produtos alternativos, além de extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* sobre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. As plantas e os basidiocarpos foram coletados e transferidos para estufa de secagem em 40 °C por 7 dias, sendo em seguida, moídos até se obter um pó fino. Os extratos e o basidiocarpos foram utilizados na concentração 10%, e os produtos alternativos em três concentrações, sendo a estabelecida nos rótulos dos produtos (CR), a metade (0,5CR) e o dobro da mesma (2CR). Em todos os tratamentos foram feitas pulverizações sobre o fungo já repicado no meio de cultura BDA. Avaliou-se viabilidade, por meio da contagem direta dos conídios viáveis e inviáveis após incubação por 16 h em 26±1°C, fotofase 12h. Para Unidade Formadora de Colônias (UFC) contou-se o número de colônias após 5 dias de incubação. Em relação ao crescimento vegetativo e a produção de conídios, o fungo foi repicado em 3 pontos na superfície do meio de cultura de cada placa de Petri, permanecendo em incubação por 7 dias, para posterior medição das colônias e contagem de conídios. Verificou-se que todos os extratos aquosos, exceto o de cinamomo, diferiram da testemunha para viabilidade. Para o UFC, somente os extratos de canela, louro e *P. sanguineus*, não diferiram da testemunha. No diâmetro, os extratos de capim cidreira, arruda, cinamomo, canela, citronela, alecrim diferiram da testemunha. Assim como na conidiogênese onde os extratos capim cidreira, arruda, canela, alecrim e *P. sanguineus* também apresentaram significância em relação à testemunha. Para os extratos alcoólicos observou-se que na viabilidade, todos diferiram da testemunha. Enquanto que na UFC esses mesmos extratos não apresentaram significância. Para o diâmetro ocorreu uma diferença significativa para os extratos alcoólicos de arruda, mamona, cinamomo e nim. Já para a produção de conídios verificou-se diferença significativa dos extratos alcoólicos arruda, mamona, cinamomo, canela, nim, alecrim e louro. Para os produtos fitossanitários alternativos, no parâmetro viabilidade, todos os produtos apresentaram diferença significativa em relação a testemunha, exceto Forth (0,5 CR e na CR) e Agro-mos® na CR. Na UFC, foi verificada diferença significativa em todas as concentrações testadas. Para o diâmetro apenas o Pironim® na 0,5CR diferiu da testemunha. Já para a produção de conídios o produto Planta Clean® (0,5 CR e na CR), Pironim® (CR), Calda Bordalesa (0,5 CR e na CR) e Calda Sulfocálcica (CR e no 2CR) apresentaram diferenças significativas dos tratamentos em relação à testemunha. Apesar dos parâmetros biológicos apresentarem variação percentual (estímulo ou redução) verificou-se a compatibilidade para os extratos aquosos e alcoólicos. Em relação aos produtos alternativos somente a Calda Sulfocálcica se mostrou incompatível para o fungo *M. anisopliae*.

Palavras chaves: Fungos entomopatogênicos, compatibilidade, extratos vegetais, produtos alternativos

## ABSTRACT

**Effects of pesticides on natural plant extracts and biological parameters of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.** The objective of this study was to evaluate the compatibility of aqueous and alcoholic plant extracts, alternative products and basidiocarps of the fungus *Pycnoporus sanguineus* on *Metarhizium anisopliae*. These plants and the basidiocarps were collected and transferred to drying oven at 40°C for 7 days and then ground into a fine powder. The extracts and basidiocarps were used in 10% concentration and the alternative products in 3 concentrations, being established on product labels (CR), half (0,5CR) and twice (2CR). All treatments were sprayed on the already inoculated fungus in PDA culture medium. Viability was evaluated by direct counting of viable and unviable conidia after incubation for 16 h at  $26 \pm 1$  ° C, 12h photoperiod. For Colony Forming Unit (CFU), it was counted the number of colonies after 5 days of incubation. To vegetative growth and production of conidia, the fungus was inoculated in three points on the culture medium surface of each petri dish, staying for 7 days for subsequent colonies measurement and counting conidia. For the viability was found that all aqueous extracts, except the chinaberry differed from the control. For the CFU, only cinnamon and laurel extracts and *P.sanguineus* not differed from the control. In diameter, lemon grass, rue, chinaberry, cinnamon, citronella and rosemary extracts differed from the control. For conidiogenesis, lemon grass, rue, cinnamon and rosemary extracts and *P. sanguineus* also had significance in relation to control. All the alcoholic extracts, for viability, differed from the control. However, for CFU these same extracts showed no significance. For the diameter, it was a significant difference to the alcoholic extracts of rue, castor, neem and chinaberry. For the conidia production there were significant difference between alcoholic extracts of rue, castor, chinaberry, cinnamon, neem, rosemary and laurel. For the alternative products, in the viability parameter, all products showed significant difference in relation to control, except Forth (0,5 CR and CR) and Agro-Mos<sup>®</sup> in CR. For CFU, there was significant difference at all concentrations tested. For the diameter, only 0,5CR Pironim<sup>®</sup> differed at the control. For the conidia production, Plant Clean<sup>®</sup> (0.5 CR and CR), Pironim<sup>®</sup> (CR), Bordeaux Mixture (0.5 CR and CR) and Sulfur Mixture (CR and 2CR) showed significant differences compared to control. Despite of the biological parameters present percentage change (reduction or stimulation), there was compatibility for aqueous and alcoholic extracts. In relation to alternative products, only Sulfur Mixture was incompatible for the fungus *M. anisopliae*.

Keywords: entomopathogenic fungi, compatibility, plant extracts, alternative products

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produtos comerciais utilizados nos experimentos com respectiva composição, concentração e atividade biológica.....	33
Tabela 2. Plantas utilizadas nos tratamentos, nome popular, partes utilizadas e atividade biológica.....	34
Tabela 3. Médias ( $\pm$ EPM) da porcentagem de viabilidade de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$ fotofase de 12 horas).....	42
Tabela 4. Médias ( $\pm$ EPM) de UFC de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$ fotofase de 12 horas).....	44
Tabela 5. Diâmetro médio ( $\pm$ EPM) de colônias de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$ fotofase de 12 horas).....	46
Tabela 6. Médias ( $\pm$ EPM) da produção de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$ fotofase de 12 horas).....	48
Tabela 7. Valores de Toxicidade (T) e classificação dos produtos comerciais quanto à compatibilidade a <i>Metarhizium anisopliae</i> (isolado Unioeste 22).....	49
Tabela 8. Médias ( $\pm$ EPM) da viabilidade, Unidades Formadoras de Colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Unioeste 22), em contato com diferentes extratos aquosos de plantas e de basidiocarpos de <i>Pycnoporus sanguineus</i> na concentração de 10% ( $26\pm 1^\circ\text{C}$ fotofase de 12 horas).....	57
Tabela 9. Valores de Toxicidade (T) e classificação dos extratos vegetais aquosos e de basidiocarpos de <i>Pycnoporus sanguineus</i> quanto à compatibilidade a <i>Metarhizium anisopliae</i> (isolado Unioeste 22).....	58
Tabela 10. Médias ( $\pm$ EPM) da viabilidade, Unidades Formadoras de Colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Unioeste 22), em contato com diferentes extratos alcoólicos de plantas na concentração de 10% ( $26\pm 1^\circ\text{C}$ fotofase de 12 horas).....	62
Tabela 11. Valores de toxicidade (T) e classificação dos extratos vegetais alcoólicos quanto à compatibilidade a <i>Metarhizium anisopliae</i> (isolado Unioeste 22).....	63



## SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA .....	ii
FOLHA DE APROVAÇÃO.....	iii
DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT .....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 – Produtos Comerciais Alternativos no Controle de Pragas.....</b>	<b>14</b>
2.1.1 Bion 500 WG® .....	14
2.1.2 Agro-Mos® .....	15
2.1.3 Agro-Fos.....	15
2.1.4 Forth Defende.....	16
2.1.5 Biogermex® .....	16
2.1.6 Planta Clean® .....	17
2.1.7 Pironim® .....	17
2.1.8 Óleo de Citronela.....	18
2.1.9 Calda Bordalesa.....	18
2.1.10 Calda Sulfocálcica.....	19
<b>2.2 - Plantas Potenciais para o Controle de Pragas .....</b>	<b>19</b>
2.2.1 Alecrim.....	20
2.2.2 Arruda.....	21
2.2.3 Canela.....	21
2.2.4 Capim Cidreira.....	22
2.2.5 Cinamomo.....	23
2.2.6 Citronela.....	23
2.2.7 Cúrcuma.....	24
2.2.8 Eucalipto.....	24
2.2.9 Louro.....	25
2.2.10 Mamona.....	25

2.2.11 Nim.....	26
<b>2.3 <i>Pycnopus sanguineus</i> (L. ex Fr.) Murr.....</b>	<b>27</b>
<b>2.4 Fungos Entomopatogênicos.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5 Interações Produtos Alternativos e Entomopatógenos.....</b>	<b>29</b>
<b>2.6 Interação Extratos Vegetais e Micro-organismos.....</b>	<b>30</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
3.1 Micro-organismos Utilizados.....	32
<b>3.2 Obtenção dos Produtos e Extratos.....</b>	<b>32</b>
3.2.1 Obtenção de extrato bruto aquoso de <i>P. sanguineus</i> .....	37
<b>3.4 Avaliações dos Parâmetros Biológicos.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5 Análises dos Dados.....</b>	<b>38</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Efeito de Produtos Fitossanitários Alternativos sobre Parâmetros Biológicos de <i>Metarhizium anisopliae</i>.....</b>	<b>40</b>
4.1.1 Produtos comerciais.....	40
4.1.2 Extratos aquosos.....	51
4.1.3 Extratos alcoólicos.....	59
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>64</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>

## INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade nos sistemas atuais de produção agrícola está diretamente vinculado ao uso intensivo de produtos fitossanitários sintéticos, como fertilizantes, inseticidas, fungicidas e herbicidas.

No entanto, usualmente aplicados em larga escala têm levado ao surgimento de problemas ambientais, já que muitos são de amplo espectro de ação e persistentes no ambiente, causando desequilíbrio biológico, devido à ação sobre organismos não-alvo, incluindo agentes de controle biológico, além de trazer danos à saúde dos produtores e consumidores devido à toxicidade ou mesmo à presença de resíduos após a aplicação, além de promover o desenvolvimento de populações de pragas resistentes (AZEVEDO, 1998).

Por outro lado, produtos fitossanitários naturais são uma alternativa segura e saudável de produção agrícola e é importante que sejam seletivos aos inimigos naturais, preservando, desta forma, o controle biológico natural entre as pragas e seus predadores (ALVES *et al.*, 1998a).

Entre os produtos tidos como alternativos, estão os biofertilizantes, indutores de resistência e os produtos naturais à base de plantas (partes ou extratos), caldas, compostos como Supermagro, e também microrganismos, que atuam como fertilizantes naturais, indutores de resistência em plantas, ou ainda, recomendados para o controle de pragas e doenças de plantas.

Os fungos entomopatogênicos são amplamente utilizados no controle biológico de artrópodes, destacando-se os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* devido à fácil produção em larga escala (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

Os estudos *in vitro* que avaliem a interação de produtos fitossanitários alternativos e fungos entomopatogênicos são imprescindíveis para a determinação de estratégias adequadas de utilização dos entomopatógenos em um sistema de manejo integrado, visto que estes produtos podem influenciar os microrganismos, modificando, conseqüentemente, a sua ação.

Atualmente, muitos estudos com extratos vegetais já realizados não somente demonstram seu potencial de utilização, como comprovam a eficácia contra vários problemas de ordem fitossanitária, com diversas vantagens sobre os sintéticos: baixo impacto causado para o meio ambiente, ausência de resíduos nos alimentos e maior segurança aos operadores. Além disso, há que se destacar a menor probabilidade de

desenvolvimento de resistência pelos insetos, compatibilidade com outros métodos de controle e menor toxicidade a mamíferos (MENEZES, 2005).

No entanto, ainda faltam estudos, principalmente em relação à associação dos chamados produtos fitossanitários alternativos e entomopatógenos, especificamente fungos entomopatogênicos, no sentido de se conhecer o efeito de aplicações conjuntas de ambos ou os efeitos na sobrevivência dos microrganismos no ambiente, uma vez que esses produtos alternativos também podem agir sobre esses agentes de controle, interferindo no seu modo de ação ou então apresentar efeitos secundários.

Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de produtos alternativos fitossanitários sobre parâmetros biológicos do fungo *Metarhizium anisopliae*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – Produtos Comerciais Alternativos no Controle de Pragas

Em decorrência dos malefícios que os agroquímicos vêm causando ao homem, têm crescido a busca pelos produtos fitossanitários chamados “alternativos” para o controle de pragas e doenças nas mais variadas culturas comerciais.

A tendência mundial aponta para uma redução do uso de agrotóxicos em virtude do aumento da consciência dos efeitos prejudiciais dos mesmos sobre o meio ambiente e sobre a saúde humana. Muitos produtos alternativos vêm sendo utilizados por produtores convencionais e principalmente por produtores orgânicos no combate às pragas, buscando reduzir os danos causados ao meio ambiente e, principalmente, buscando uma redução dos custos de produção (LOPES *et al.*, 2004).

Sabe-se que muitos produtos alternativos podem substituir com eficiência os agrotóxicos sintéticos tradicionais, como a calda bordalesa e a calda viçosa (GONÇALVES *et al.*, 2007) no combate a doenças fúngicas e bacterianas e calda sulfocálcica para aplicação contra ácaros e diversas pragas (VENZON *et al.*, 2006; AFONSO *et al.*, 2007).

Existem vários produtos alternativos utilizados nos sistemas de produção alternativa, entre os quais se citam Pironim, Planta Clean (BELLON, 2010), Calda Sulfocálcica (VENZON *et al.*, 2006), Calda Bordalesa (SILVA *et al.*, 2009), Forth (ALMEIDA, 2010), Biogermex<sup>®</sup>, Bion<sup>®</sup>, Agro-Mos<sup>®</sup> (COSTA *et al.*, 2010), Agro-Fos e Óleo de Citronela (ANDRADE *et al.*, 2009).

#### 2.1.1 Bion 500 WG<sup>®</sup>

O produto Bion 500 WG<sup>®</sup> (acibenzolar-s-metil, ASM) é um indutor químico de resistência em plantas e não tem ação direta contra os patógenos. Aplicado na parte aérea das plantas, induz resistência sistêmica contra patógenos em diversas espécies de plantas (REIGNAULT; WALTERS, 2007). Devido ao seu modo de ação particular, o produto deve ser aplicado antes da entrada dos patógenos, de forma preventiva. O produto é rapidamente absorvido pelos tecidos foliares e se transloca sistemicamente, tanto para as folhas quanto para as raízes, ativando assim a planta de forma generalizada. Devido às suas características, o produto é indicado para o Manejo Integrado de Doenças (SYNGENTA, 2008).

Rodrigues *et al.* (2006) observaram que em cultivares de caupi suscetível e com resistência intermediária, inoculadas com *Fusarium oxysporum* e induzidas com ASM (Bion 500WG) houve controle da murcha de fusário em ambas as cultivares testadas.

#### 2.1.2 Agro-Mos<sup>®</sup>

Agro-Mos<sup>®</sup> é um produto certificado para uso orgânico, o qual é composto por um mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen) que confere efeito fitotônico às plantas. Ativa os mecanismos latentes de resistência natural; possui caráter sistêmico, com diferentes mecanismos de ação, é persistente por longo período de tempo e melhora a qualidade e aumenta a produtividade das colheitas (IMPROCROP BRASIL).

O extrato de levedura contém vários componentes que podem eliciar respostas de defesa, incluindo quitina, oligômeros de N-acetilglucosamina,  $\beta$ -glucanas, glicopeptídeos e ergosterol (BOLLER, 1995).

Em um estudo testando produtos que atuassem como indutores de resistência na proteção de mamões contra podridões pós-colheita foi verificado que a aplicação de Agro-mos<sup>®</sup> reduziu a incidência de antracnose em torno de 70%. No entanto, o produto não foi eficiente no controle da podridão causada por *Lasiodiplodia* (DANTAS *et al.*, 2004).

#### 2.1.3 Agro-Fos

Agro-Fos faz parte da união do composto de sólidos solúveis, rico em nutrientes, aminoácidos, vitaminas e fosfito que unidos estimulam os processos fisiológicos e de resistência das plantas em todos os seus mecanismos. Estimula a produção de fitoalexinas e outros mecanismos naturais de defesa, minimiza os efeitos de estresse, auxilia o Manejo Integrado de Doenças e melhora a qualidade dos frutos (IMPROCROP BRASIL).

#### 2.1.4 Forth Defende

Forth Defende é um inseticida natural que combate e controla pragas como pulgão, cochonilha, tripses, mosca branca e psilídio, entre outros, e também possui propriedades acaricidas, sendo produzido a partir das raízes de uma planta a *Derris urucu*, conhecida também como timbó verdadeiro, da qual se extrai a rotenona.

A maior vantagem da utilização da rotenona é sua baixa permanência no meio ambiente e pouco efeito cumulativo. Tais características tornam esse composto ideal em culturas orgânicas ou em qualquer outra aplicação em que se procure efetividade com maior segurança (TECNUTRI DO BRASIL, 1998).

Diversos trabalhos utilizando a rotenona (COSTA *et al.*, 1986; LUITGARDS-MOURA *et al.*, 2002; AZEVEDO *et al.*, 2005) foram realizados visando o controle de insetos-praga nas últimas décadas.

Trabalhos realizados com o produto Rotenat<sup>®</sup>, a base de rotenona também, demonstraram que este foi o produto mais eficiente para o controle de *Callosobruchus maculatus*, caruncho que ataca o feijão caupi (AZEVEDO *et al.*, 2005).

Segundo Gallo *et al.* (2002), a rotenona inibe a enzima NADH oxido-redutase, da cadeia respiratória, sendo observada uma intoxicação nos insetos, a qual é manifestada por meio da redução dos batimentos cardíacos, depressão de movimentos respiratórios e redução no consumo de oxigênio.

#### 2.1.5 Biogermex<sup>®</sup>

Biogermex<sup>®</sup> é um produto certificado para uso orgânico, à base de extratos cítricos (*Citrus simensis*, *C. reticulata blanco*, *C. paradisi* e *C. aurantium*), os quais são submetidos a processos de fermentação, esterilização (U.V.) e estabilização com ácidos orgânicos de origem natural, sendo portanto, um produto de baixo impacto ambiental. É um produto natural complexo, não apresentando fórmula química específica. Atua melhorando a resistência das plantas contra o estresse decorrente de doenças causadas por fungos e bactérias e contra o ataque de insetos, através da indução na produção de fitoalexinas, e também como germicida na medida em que provoca extrusão de membranas celulares de fungos e bactérias (MERKO, 1998).

Pesquisas relacionadas ao Biogermex<sup>®</sup> demonstraram a eficiência no controle para os patógenos *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, *Plasmopara viticola* e *Hemileia vastatrix* Berk e Br. (HANADA *et al.*, 2004; GALVÃO *et al.*, 2006; RESENDE *et al.*, 2006). Seu modo de ação está relacionado com indução de resistência via aumento da síntese de fitoalexinas (BERNARDO *et al.*, 2001).

### 2.1.6 Planta Clean<sup>®</sup>

Planta Clean<sup>®</sup> é um produto certificado para uso orgânico desenvolvido para a aplicação nos mais variados tipos de cultura, desde plantas ornamentais a fruticultura, tendo efeito fungicida e inseticida dependendo das concentrações utilizadas (MATTIELO, 2010). O produto é constituído por extratos vegetais, ácidos graxos e sais minerais carbonatados. Sua ação inseticida se dá em função dos extratos vegetais que o compõe (ECOPLANET).

Estudos realizados por Bellon *et al.* (2009) mostraram que este produto produz efeito deterrente sobre *Vatiga manihotae*, reduzindo sua oviposição.

### 2.1.7 Pironim<sup>®</sup>

Produto certificado para uso orgânico, desenvolvido em base biofermentada ativada com ação letal, inibidor de apetite e repelente. Atua contra ácaros, cochonilhas, pulgões, tripses, lagartas desfolhadoras, insetos broqueadores, vaquinhas, percevejos, mosca branca e nematóides (NEGÓCIOS DA TERRA, s.d.).

Em sua formulação contém óleo de nim (*Azadirachta indica*) rico em azadiractina, que tem propriedades inseticidas e repelentes comprovada contra mais de 300 espécies de insetos pragas (MARTINEZ, 2002; LIANG *et al.*, 2003; MOURÃO *et al.*, 2004; DEQUECH *et al.*, 2009). Também possui em sua formulação rotenona (tímbó), piretro natural (crisântemo), alamanda (*Allamanda nobilis*), pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) e extrato pirolenhoso (eucalipto) os quais possuem propriedades inseticidas comprovadas igualmente ao nim (AZEVEDO *et al.*, 2005; PANSIERA *et al.*, 2003).

O Pironim atua de diferentes formas, como inibição alimentar e no controle hormonal. Atua também como antagonista do hormônio de ecdise, perturbando o processo de troca do exoesqueleto, e em altas concentrações pode impedi-la, causando a morte do inseto (NEGÓCIOS DA TERRA, s.d.).



### 2.1.8 Óleo de Citronela

O óleo de citronela é um óleo essencial, extraído das folhas e caules de *Cymbopogon winterianus*, rico em geraniol, citronelol e citronelal, utilizados na fabricação de velas, cremes e loções. O óleo de citronela é também um repelente de insetos de origem vegetal, e também possui fortes propriedades antifúngicas (EPA, 2011).

Além de ser solúvel em solvente orgânico, o óleo essencial da citronela também pode ser extraído por álcool. Nesse processo, no entanto, outras substâncias presentes na folha, como clorofila e pigmentos, também são removidas, diferentemente da extração a vapor na qual se obtém óleo puro (AGNOLIN, 2009).

Alguns trabalhos realizados com extrato bruto e óleo essencial destas plantas demonstram um enorme potencial de controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000).

### 2.1.9 Calda Bordalesa

É uma suspensão coloidal, de cor azulada, proveniente da mistura de uma solução de sulfato de cobre com uma suspensão de cal virgem ou hidratada (EMBRAPA AGROBIOLOGIA, 2006).

Utilizada pela primeira vez na década de 1880 na França para controlar doenças causadas por míldio em videiras, passou a ser utilizado depois como insumo em culturas orgânicas principalmente em pomares e hortaliças sempre com o objetivo principal de controlar doenças causadas por fungos, porém com ação secundária bactericida e ação repelente de diversos insetos considerados pragas como: tripes, pulgões, cochonilhas e cigarrinha verde. Devido a sua composição ser basicamente de cobre e cal, ela auxilia no equilíbrio nutricional de cobre e cálcio, por esta composição básica seu uso é permitido em cultivos de caráter orgânico (EMBRAPA, 2008).

A calda bordalesa é um dos fungicidas de maior aplicação na viticultura nacional, pois apresenta baixo custo, pequena toxidez ao homem e animais. Contudo, há relatos de efeito fitotóxico do cobre, que podem ser extremamente tóxicas causando sintomas como clorose, necrose, descoloração da folha e inibição de crescimento da raiz (YURELA,

2005). Ainda segundo Brun *et al.* (2003), plantas ruderáceas têm seu desenvolvimento afetado por elevadas quantidades de cobre no solo.

#### 2.1.10 Calda Sulfocálcica

A obtenção da calda sulfocálcica resulta da reação balanceada entre o cálcio e o enxofre, dissolvidos em água e submetidos à fervura, constituindo uma mistura de polissulfetos de cálcio, cuja presença é essencial para a atuação agrônomo (PRIMAVESI, 1994; PENTEADO, 1999).

Esta calda age como fitoestimulante e fitoprotetor que apresenta ampla ação fungicida, inseticida e acaricida. No período do inverno, é recomendada para a limpeza do tronco e ramos com o objetivo de eliminar fungos de revestimento e controlar cochonilhas e doenças como a rubelose e gomose. No verão, recomenda-se reduzir as dosagens e os períodos de intervalo de aplicação (PENTEADO, 2007).

A calda sulfocálcica é utilizada em sistemas orgânicos para proteger a planta contra pragas em geral, dentre eles insetos e ácaros, de forma corretiva, no início da infestação, e também para nutrir a planta com nutrientes essenciais como o cálcio e o enxofre, além de ser utilizada como tratamento de inverno, para evitar inóculos de fungos causadores de doenças como, por exemplo, a ferrugem (FREITAS, 2003).

## 2.2 - Plantas Potenciais para o Controle de Pragas

O uso de plantas com propriedades inseticidas já vem de séculos, sendo inicialmente na sua forma mais natural pó e solução aquosa; com os avanços da química, foi possível extrair seus princípios ativos e utilizá-los especificamente no controle de pragas (MAIRESSE, s.d.).

Entretanto, com as alterações na eficiência do controle, devido às diferenças na concentração do ingrediente ativo entre plantas e, principalmente, o baixo efeito residual, que apontava à necessidade de várias aplicações em períodos curtos, fez com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos (COSTA *et al.*, 2004).

Porém, a necessidade de buscar novas substâncias no controle de pragas, com menor impacto ambiental, de fácil decomposição (SAITO; LUCHINI, 1998), sem efeitos

nocivos sobre predadores e outros organismos úteis, além do aparecimento de resistência a inseticidas, comuns na utilização dos agrotóxicos convencionais, fez com que ressurgisse o interesse pelos inseticidas botânicos (VENDRAMIN; CASTIGLIONI, 2000).

Neste contexto, nota-se o interesse por substâncias com propriedades deterrentes e inseticidas de origem vegetal para os insetos como, por exemplo, a rotenona, a azadiractina, o piretro e a nicotina, sendo esses produtos considerados de baixo impacto para o meio e de baixa toxicidade. Esses produtos levam vantagens sobre os pesticidas, pois não poluem, e são relativamente seguros na manipulação (SANTOS *et al.*, 1998).

Estes compostos podem proporcionar ao agricultor um método fácil, natural e econômico de manejo de insetos, partindo do princípio da agricultura orgânica e utilizando as ferramentas do seu próprio ecossistema (HERNANDEZ; VENDRAMIM, 1997). Contudo, Saito; Luchini (1998) citam que esses produtos vegetais não deixam de ser componentes químicos, os quais devem ter os efeitos estudados.

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas pode constituir, ao lado da indução da resistência, em uma forma efetiva de controle de doenças e pragas em plantas cultivadas (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2003).

O uso destes extratos tem sido relatado como potentes fungicidas e inseticidas naturais, onde os resultados alcançados nessa linha de pesquisa têm-se mostrado promissores para utilização práticas no controle de fitopatógenos (FRANCO; BETTIOL, 2000; SANTOS *et al.*, 2004; BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004).

Assim, a pesquisa da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto de plantas pode constituir uma forma efetiva de controle de doenças e pragas em plantas cultivadas (DIAS, 1993).

### 2.2.1 Alecrim

Nativa da região do Mediterrâneo, *Rosmarinus officinalis* Linn. apresenta diversos nomes populares, como alecrim-de-cheiro, alecrim-das-hortas, alecrim-da-casa, alecrim-comum, alecrim-verdadeiro e rosmaninho. Apesar de ser utilizada basicamente como condimento, esta planta apresenta propriedades antioxidantes e antimicrobianas (JOLY, 1993; PORTE; GODOY, 2001).

O alecrim é rico em terpeno, metabólito secundário com característica lipofílica, que tende a compartilhar a fase aquosa das estruturas da membrana, causando sua expansão, aumento da fluidez ou desordem da estrutura da mesma, além de inibição de enzimas ali embebidas, podendo ser esses efeitos os responsáveis pela atividade antifúngica desse extrato (SIKKEMA *et al.*, 1995).

Rozwalka *et al.* (2008) observaram o efeito inibitório dos extratos aquosos de alecrim (10%) (*Rosmarinus officinalis*) sobre o crescimento micelial de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* indicando potencial de controle da antracnose em frutos de goiabeira.

### 2.2.2 Arruda

*Ruta graveolens* L. (Rutaceae), comumente denominada arruda, é uma espécie de fácil cultivo, disseminada mundialmente, sendo uma planta herbácea perene, que desenvolve bem em terrenos secos. Suas folhas contêm glândulas translúcidas com óleo essencial (0,1 a 0,6%), responsável pelo odor característico do táxon.

A composição química revela ainda alcalóides quinolínicos com potencial tóxico, flavonóides, taninos, resinas e ácidos orgânicos, entre outros (ALONSO, 1998).

Pedroso *et al.* (2009), em trabalhos realizados com extrato aquoso de arruda demonstraram efeito fungitóxico satisfatório, sobre *Alternaria solani*, em todas as concentrações estudadas (10, 20 e 30%), apresentando comportamento linear. Salvadori *et al.* (2003) demonstraram que o extrato de folhas de arruda possui capacidade inibitória de crescimento micelial, quando adicionado a 25% ao meio BDA, para *C. gloeosporioides*.

### 2.2.3 Canela

A caneleira (*Cinnamomum zeylanicum*) (Lauraceae) é a espécie arbórea muito cultivada nas províncias do sudoeste da China. As partes mais úteis das canelas são o córtex dessecado e o óleo. O óleo é obtido das folhas por destilação, por arraste a vapor. Seu principal constituinte é o aldeído cinâmico, cujo teor pode ser superior a 80%. O cinamaldeído concentrado é um irritante para a pele sendo tóxico em doses elevadas.

Em testes de laboratório, o cinamaldeído inibiu, embora nem sempre, o desenvolvimento de leveduras resistentes ao Fluconazol, um medicamento indicado para

uma série de infecções fungicidas, como a candidíase vaginal (ÓLEOS ESSENCIAIS, 2009).

Trabalhos prévios sobre o óleo de *C. zeylanicum* indicaram uma grande diversidade da composição química, com relato de pelo menos cinco quimiotipos: eugenol, (E)-cinamaldeído, benzoato de metila, linalol e cânfora (LIMA *et al.*, s.d.).

Ainda de acordo com a literatura, a canela apresenta como composição química as seguintes substâncias: ácido cinâmico, açúcares, aldeído benzênico, aldeído cumínico, benzonato de benzil, cimeno, cineol, eugenol, felandreno, furool, linalol, metilacetona, mucilagem, oxalato de cálcio, pineno, resina, tanino e vanilina (BALMÉ, 1978).

Um trabalho realizado por Oliveira *et al.* (2000) demonstrou que o óleo de canela (2,5%) tem efeito repelente sobre *Zabrotes subfasciatus*, praga de grãos armazenados, em testes feitos em laboratório.

#### 2.2.4 Capim Cidreira

O Capim cidreira ou capim limão (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) é uma espécie perene, ereta, que forma touceiras compactas que podem atingir mais de 1 m de altura (COSTA *et al.*, 1992) e tem sido amplamente estudada, pois apresenta atividade antifúngica, inseticida, antibacteriana, anti-helmíntica, diurética e anticarcinogênica (FIGUEIREDO *et al.*, 2002). Contém grandes quantidades de óleo essencial citral em maior quantidade nas folhas jovens, responsável por muitas de suas utilizações aromáticas e medicinais seguido pelo  $\beta$ -mirceno e eugenol (SILVA *et al.*, 2010).

Nos extratos aquosos das folhas se encontram os seguintes componentes químicos segundo Silva *et al.* (2010): saponinas, iridóides e proantocianidas, mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides, polifenóis, luteolin e alcalóides.

Trabalhos realizados por Almeida *et al.* (2008) demonstraram que o extrato hidroalcoólico de *C. citratus* apresentou efeito fungistático e fungicida para as leveduras do gênero *Candida* spp.

### 2.2.5 Cinamomo

Esta espécie é originária de Índia e da Pérsia, pertencendo à família Meliaceae. Foi introduzida no Brasil há séculos, sendo notável pela facilidade de adaptação e pela vigorosa expansão vegetativa (MARTINEZ, 2002a).

Guerra (1985) relata que o cinamomo é muito utilizado no controle de insetos considerados praga para agricultura dentre os quais se destacam os gafanhotos e pulgões.

Carvalho; Ferreira (1990) demonstraram que os extratos de folhas e frutos de *M. azedarach*, obtidos em diversas fases fenológicas, apresentaram efeito deterrente sobre *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae).

No Brasil, onde essa planta tem ampla distribuição geográfica, vários estudos, avaliando seu efeito inseticida têm sido realizados (RODRIGUES; VENDRAMIN, 1998; VENDRAMIN; SCAMPINI, 1998), podendo beneficiar seu emprego como inseticida botânico.

### 2.2.6 Citronela

A citronela (*Cymbopogon winterianus*) (Poaceae) é uma planta aromática e pode apresentar atividade atraente, repelente e até tóxica a insetos. Essa planta vem sendo usada com matéria prima para a fabricação de repelentes contra mosquitos e borrachudos (MENEZES, 2005).

A citronela é bastante conhecida pelos seus efeitos repelentes, principalmente contra mosquitos e borrachudos. Suas folhas são longas, com bordas cortantes e de coloração verde clara, idêntica ao capim-limão (*C. citratus*). Difere deste apenas pelo aroma, que é suave, com perfume de limão, ao contrário da citronela que é bastante forte. Ela contém grandes quantidades de óleo essencial citronelal, responsável por suas utilizações repelentes (ÓLEOS ESSENCIAS, 2009).

Além de ser solúvel em solvente orgânico, o óleo essencial da citronela também pode ser extraído por álcool. Nesse processo, no entanto, outras substâncias presentes na folha, como clorofila e pigmentos, também são retiradas, diferentemente da extração a vapor na qual se obtém óleo puro (AGNOLIN, 2009).

Em sua composição química também pode se encontrar acetato de eugenol, ácido cinâmico, açúcares, aldeído benzênico, aldeído cinâmico, aldeído cumínico, benzonato de

benzil, cimeno, cineol, eugenol, felandreno, furol, goma, linalol, metilacetona, mucilagem, oxalato de cálcio, pineno, resina, sacarose, tanino e vanilina (JARDIM DE FLORES, s.d.).

### 2.2.7 Cúrcuma

A cúrcuma (*Curcuma longa*) conhecida também como turmerico, açafrão-da-índia, açafroa e gengibre amarelo, é uma planta herbácea da família da Zingiberaceae, originária da Ásia (Índia e Indonésia) (KUHN *et al.*, 2006).

Tem sido utilizada pela indústria de alimentos, como pigmento artificial, condimento moído, em produtos de confeitaria, produtos de laticínios; também possui grande valor medicinal, sendo utilizada como cicatrizante, diurético, anti-hemorrágico, além de possuir propriedades antibióticas, inibindo o crescimento de vários microorganismos (KHUN *et al.*, 2006).

Raja; Kurucheve (1998) verificaram que o extrato aquoso de cúrcuma apresenta fungitoxicidade *in vitro* através da inibição do crescimento micelial em *Fusarium udum* e reduz o crescimento micelial e a germinação *in vitro* de escleródios de *Macrophomina phaseolina* (SINGH; RAÍ, 2000). Ressalta-se que as ações citadas estão ligadas a uma série de compostos produzidos pela planta, sendo sua maioria produtos do metabolismo secundário, presente no rizoma da planta, como compostos fenólicos, sendo o principal o pigmento curcumina (BALASUBRAMANYAM *et al.*, 2003).

### 2.2.8 Eucalipto

O eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) (Mirtaceae) é uma árvore de grande porte, de 30 a 40 m de altura, de tronco reto, com até 120 cm de diâmetro. As folhas possuem um forte odor de limão (citronelal). As folhas adultas contêm 1,5-3,5% de óleo essencial, dos quais pelo menos 70% corresponde ao componente eucaliptol. Os outros componentes ativos da folha são taninos hidrolisáveis, ácidos fenólicos, flavonóides e triterpenos (MARCHIORI; SOBRAL, 1997).

Segundo Mazzonetto; Vendramim (2003), o eucalipto possui atividade inseticida contra o besouro *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae).

Os ingredientes ativos contidos nas folhas de *E. citriodora* se mostram promissores para o controle de pragas de grãos armazenados e de formigas cortadeiras do gênero *Atta* (ROEL, 2001).

#### 2.2.9 Louro

O loureiro ou louro (*Laurus nobilis*) (Lauraceae) é uma espécie originária do Mediterrâneo. Varia entre 5 e 10 m, mas pode atingir até 20 m de altura. Suas folhas são vistosas, coriáceas e com odor muito característico, por isso são muito usadas na culinária (EMBRAPA PANTANAL).

Possui em sua composição química óleo essencial com geraniol, cineol, eugenol, linalol, terpineno, pineno, costunolide e deacetillaurebiolide, taninos, açúcares e pectinas (EMBRAPA PANTANAL).

Folhas de louro utilizadas em armários para controle de baratas, foram testadas por Machado *et al.* (1995), constatando que os compostos voláteis do louro são repelentes, mas não são tóxicos à *Periplaneta americana*.

Um estudo realizado por Pedroso *et al.*, (2009), demonstra que o extrato aquoso de louro a partir de 10%, apresentam ação fungitóxica sobre *Alternaria solani*, fungo fitopatogênico, agente causal da pinta preta no tomateiro.

#### 2.2.10 Mamona

A mamoneira (*Ricinus comunis* L.) (Euphorbiaceae) é uma planta oleaginosa, destacando-se por sua acentuada importância econômica e social com inúmeras aplicações industriais. No Brasil, conhece-se a mamona sob as designações de mamoneira, rícino, carrapateira e palma-criste (OLIVEIRA *et al.* 2005).

Das sementes é extraído óleo que tem diversas utilidades nas indústrias de uma maneira geral. A torta é o subproduto obtido após a extração do óleo com altíssimo teor tóxico apresentando alto valor comercial com fertilizante, fungicidas (BAHIA, 1994) e controlador de fitonematóides parasitas (SASSER, 1989).

A mamona produz uma toxina denominada de ricina, que é uma das mais tóxicas estudadas pelo homem, sendo encontrada no endosperma de suas sementes. Esta toxina possui duas cadeias, uma inibe a enzima  $\alpha$  amilase, impedindo a digestão e absorção do



amido e a outra inativa os ribossomos, interrompendo a síntese protéica (LORD *et al.* 1994, OLSNES; KOZLOV 2001).

O extrato do fruto verde de mamoneira na concentração de 10% em dieta artificial proporcionou bioatividade, no aumento da duração larval e pupal e diminuição da viabilidade larval e do peso pupal de *Spodoptera frugiperda* (SANTIAGO *et al.*, 2008).

Pesquisa realizada por Rondelli (2010) demonstrou que o extrato de mamona a 2%, é compatível com *Beauveria bassiana*, sendo uma tecnologia viável para o controle de *Plutella xylostella*, traça-das-crucíferas.

#### 2.2.11 Nim

O nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) (Meliaceae), é conhecido há séculos, principalmente na Índia, por sua ação medicinal e, nas últimas décadas seu estudo tem se difundindo devido às substâncias inseticidas presentes nas folhas e frutos. Dentre os mais de 40 terpenóides já identificados na planta que possuem ação contra insetos, a azadiractina é o mais eficiente. (IAPAR, 2008).

Os compostos bioativos de nim são utilizados na forma de pós, extratos aquosos, óleos e pasta e formulações ricas em azadiractina (SAXENA, 1989). Produtos à base de nim têm sido aplicados em culturas, por meio de polvilhamento do pó de sementes e folhas, para controle de pragas como lagartas e mediante pulverização de extratos aquosos ou de soluções de óleo emulsionável para controle de insetos e outras pragas foliares (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Os efeitos de produtos à base de nim são bem conhecidos no controle de insetos, porém, podem também agir negativamente sobre outros organismos como nematóides, moluscos, crustáceos, vírus de plantas e fungos (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Seus principais elementos químicos são uma mistura de 3 ou 4 compostos correlatos, esses compostos pertencem à classe dos produtos naturais conhecidos por triterpenos, mais especificamente limonóides, sendo a azadiractina é o mais estudado e mais potente (MARTINEZ, 2002).

Marques *et al.* (2004) verificaram que o óleo de nim afeta o crescimento e a esporulação de *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *Paecilomyces farinosus*, porém não afeta a viabilidade dos conídios destes fungos.

### 2.3 *Pycnoporus sanguineus* (L. ex Fr.) Murr

É um fungo do tipo saprófita de crescimento lento, pertencente à Divisão *Basidiomycota*, da família Poliporaceae, disponível pela decomposição de certos tipos de madeira nas florestas e destacando-se pela cor vermelho-alaranjado de seus basidiocarpos (BENINCA *et al.*, 2008).

Smânia *et al.* (1998) observaram a síntese de metabólitos secundários e a atividade antimicrobiana de *P. sanguineus* contra bactérias de produtos alimentícios. Ainda, observaram que o fungo produziu cinnabarina, antibiótico de coloração laranja que inibi o crescimento de bactérias como *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, entre outras.

Toillier *et al.* (2010) verificaram que o extrato aquoso de micélio de *P. sanguineus* estimulou o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, enquanto extratos aquosos de basidiocarpo e de filtrado da cultura de *P. sanguineus* reduziram o crescimento da bactéria.

Viecelli (2008) demonstrou que os extratos obtidos do filtrado de cultura de *P. sanguineus* reduziram a severidade da mancha angular do feijoeiro, tanto local como sistemicamente, por meio do aumento da atividade de enzimas de defesa como peroxidase e polifenoloxidase.

### 2.4 Fungos Entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos são microrganismos que causam doenças em insetos, principalmente aqueles de importância agrícola. São os principais responsáveis pela mortalidade natural de insetos-praga em agroecossistemas, atuando dessa maneira no controle biológico de pragas (ALVES, 1998).

Além de constituírem 80% das enfermidades responsáveis pelos surtos epizooticos dos ecossistemas e agroecossistemas, são de fácil disseminação, pois algumas espécies possuem a capacidade de penetrar através da cutícula íntegra de artrópodes e atingir diretamente a hemocele, até mesmo no caso de cochonilhas providas de carapaça. Em se tratando de fungos imperfeitos como os Hifomicetos, os propágulos viáveis (conídios ou fragmentos de hifas), a colonização do inseto e a exteriorização do fungo sobre o cadáver infectado permitem a sua rápida disseminação pelo vento (ALVES, 1998).

Existem alguns fungos importantes no controle biológico de pragas em nível de campo. Entre eles, as espécies *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces fumosoroseus* e *Isaria* sp. são as mais frequentes em agroecossistemas (FARIA; MAGALHAES, 2001).

*M. anisopliae* (Metsch) é um importante fungo cuja ocorrência já foi assinalada em mais de 300 espécies de insetos. No Brasil, esse fungo tem sido estudado sobre diversas pragas como *Mahanarva posticata* (cigarrinha da cana), *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana), *Nezara viridula* (percevejo-verde da soja), *Piezodorus guildini* (percevejo-verde-pequeno da soja), apresentando um grande potencial no controle biológico. O principal exemplo de sucesso na utilização de *Metarhizium* é no controle biológico de cigarrinhas, principalmente na cana-de-açúcar e pastagens (MICHEREFF FILHO *et al.*, 2009).

Entre as principais vantagens na utilização dos fungos entomopatogênicos nas lavouras, pode-se citar: não polui o ambiente e a natureza, uma vez que não deixa resíduos nos alimentos, na água, no solo e nem afeta polinizadores, nem o ser humano; protege a biodiversidade, principalmente inimigos naturais, uma vez que é seletiva a eles; além de ser economicamente viável (MARTINS, 2007).

Apesar do avanço na utilização prática de agentes entomopatogênicos nas últimas décadas, é importante mencionar que esses microrganismos raramente devem ser considerados isoladamente no controle de pragas. Esse tipo de controle deverá fazer parte de um conjunto de medidas, como sua associação com produtos fitossanitários seletivos a inimigos naturais bem como com outros agentes de controle, para assim manter populações das pragas abaixo do nível de dano econômico (MARTINS, 2007).

## **2.5 Interações Produtos Alternativos e Entomopatógenos**

Com o uso intensivo e a aplicação inadequada de produtos químicos, vêm aumentando os problemas ambientais, tais como a seleção de fitopatógenos, plantas invasoras e insetos pragas resistentes, além de empobrecimento do solo e danos à saúde de produtores e consumidores (KEINATH 1998, DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO 2001, BRANCO *et al.* 2003, ROMAN *et al.* 2004).

Com a crescente busca por produtos mais saudáveis, muitos agricultores têm adotado alternativas naturais e menos nocivas ao meio ambiente para o controle de pragas (BETTIOL; MORANDI, 2009).

O controle associado dos insetos pragas, com a utilização simultânea de um ou mais métodos de controle, é uma alternativa que vem sendo explorada na atualidade.

Ainda são escassos os trabalhos com produtos fitossanitários alternativos e fungos entomopatogênicos, porém é de extrema importância a ação que esses produtos podem causar nos fungos, pois esses produtos podem atuar inibindo o crescimento vegetativo, a conidiogênese e a esporulação dos microrganismos (WENZEL, 2005).

Existe uma grande quantidade de estudos referente à compatibilidade de produtos químicos e fungos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2004; GASSEN *et al.*, 2004; PIRES *et al.*, 2010) e alternativos com Bt (MARTINELLO, 2009; SILVA, 2010).

Trabalhos já realizados sobre efeito de produtos naturais sobre fungos entomopatogênicos comprovaram haver compatibilidade (FORMENTINI, 2009) e assim tal associação constitui-se uma alternativa promissora para o controle de pragas em agroecossistemas.

Segundo Castiglioni *et al.* (2003), o Nimkol<sup>®</sup> (extrato aquoso de folhas de Nim) ocasionou efeito positivo sobre a compatibilidade *in vitro* com *M. anisopliae* para o controle de *Heterotermes tenuis*, apresentando-se compatível em até 1% i.a.

Da mesma forma, Marques *et al.* (2004) analisaram o efeito do óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade dos fungos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *Paecilomyces farinosus* em diferentes concentrações deste óleo. O crescimento e a esporulação de todos os fungos foram afetados, concluindo que a interação entre estes entomopatógenos com o óleo de nim não é eficiente.

Neste sentido, Depieri *et al.* (2005) desenvolveram estudos a respeito da interação entre plantas e fungos, comprovando que os extratos de sementes e folhas de nim foram compatíveis com *B. bassiana* em todas as concentrações testadas, enquanto o óleo emulsionável de nim apresentou efeito inibitório sobre o fungo, principalmente nas maiores concentrações.

Formentini (2009) avaliou o efeito de três produtos fitossanitários alternativos (Dalneem<sup>®</sup>, Ecolife<sup>®</sup>, Stubble-Aid<sup>®</sup>) sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae*, sendo testados na concentração recomendada (CR), metade ( $\frac{1}{2}$ CR) e o dobro da mesma (2CR) e foram pulverizados nas diferentes concentrações sobre o fungo já inoculado no meio de cultura BDA. Os produtos afetaram somente as UFC e o diâmetro das colônias formadas, com exceção do Dalneem<sup>®</sup> que interferiu também na produção de

conídios, mostrando-se moderadamente tóxico na 2CR, enquanto suas demais concentrações e os outros produtos foram compatíveis ao fungo.

Ainda, Mertz *et al.* (2010) avaliaram diferentes produtos alternativos comerciais Agro-mos<sup>®</sup>, Ecolife<sup>®</sup> e Dalneem<sup>®</sup>, adicionando diferentes concentrações de produtos ao meio de cultura BDA, constatando o efeito dos produtos comerciais sobre todos os parâmetros de *B. bassiana*, sendo tóxicos em todas as concentrações. Ainda segundo os autores, os resultados comprovam a necessidade de estudos dessa natureza de forma a não comprometer a ação de agentes de controle biológico.

## 2.6 Interação Extratos Vegetais e Microrganismos

Dentre as alternativas para o controle de fungos fitopatogênicos, estão a utilização de extratos vegetais, como a cúrcuma (*Curcuma longa* Linn., Zingiberaceae) (SOUZA *et al.*, s.d.), capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf.) (PEREIRA *et al.* 2009.; SOUZA *et al.*, 2007), citronela (*C. naruds* Watson, Poaceae) (MOREIRA *et al.*, 2008) e canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyer, Lauraceae) (VENTUROSOSO *et al.*, 2011), além de outras.

Bonaldo Cruz; Schwan-Estrada (1999), avaliando extratos de *C. citratus* e *E. citriodora*, verificaram que as concentrações de 25% e 50% do extrato *C. citratus* inibiu o crescimento de *Alternaria stevia* em 29% e 30%, e em *A. solani* a inibição foi em torno de 12% para as concentrações acima de 15% do extrato bruto. Já para o extrato de *E. citriodora* nas mesmas concentrações inibiram o crescimento micelial de *A. stevia* em 35% e 40%, e em 51% e 62% para *A. solani*.

O trabalho de Balbi-Peña *et al.*, (2006) sugere que os extratos de cúrcuma (*Curcuma longa*) a 10% e 15% não autoclavados inibiram em 38,2% e 23,2%, respectivamente, o crescimento micelial e 71,7% e 87%, respectivamente, a esporulação do fungo.

Outros trabalhos também apresentaram resultados positivos com o uso de extratos vegetais no desenvolvimento de fitopatógenos, como o de Celoto *et al.* (2008) onde o extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora* inibiu a germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* em mais de 90%. Pedroso *et al.* (2009) verificaram que os extratos brutos a 10% de *Ruta graveolens*, *Laurus nobilis*, inibiram o crescimento micelial de *Alternaria solani*.

Mertz *et al.* (2010) avaliaram diferentes extratos de plantas como cúrcuma (*Curcuma longa*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e citronela (*C. nardus*), adicionando diferentes concentrações de produtos ao meio de cultura BDA, e observaram que os extratos vegetais reduziram a viabilidade em no mínimo 50%, comparado à testemunha. A cúrcuma foi compatível ao fungo na menor concentração, sendo o capim limão compatível até 15% e a citronela até 10%, e ambos não afetaram a virulência do fungo.

Venturoso *et al.* (2011) relataram que o extrato de canela reduziu o crescimento micelial de *Fusarium solani*, com o aumento das concentrações usadas (5, 10, 15 e 20%), verificando-se menor diâmetro da colônia fúngica nas maiores concentrações.

Apesar do grande interesse pela interação de métodos alternativos e controle biológico, ainda há poucos estudos nessa área frente à grande quantidade de produtos naturais e agentes biológicos de controle. Estudos que comprovem a diminuição da população de pragas e doenças através da associação destes dois métodos são necessários, principalmente para os agricultores orgânicos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Microrganismos Utilizados

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Biotecnologia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE - *Campus* de Cascavel). Foi utilizado o fungo *Metarhizium anisopliae* (isolado UNIOESTE 22) por já ter sido avaliado previamente e ter apresentado atividade inseticida elevada contra bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman 1843) (THOMAZONI *et al.*, 2005), cascudinho dos aviários (*Alphitobius diaperinus* Panzer) (ROHDE *et al.*, 2006), broca da erva-mate (*Hedyathes betulinus* Kluger) (FANTI *et al.*, 2010) e ampola da erva-mate (*Gyropsylla spegazziniana*) (FORMENTINI *et al.* 2011).

O inóculo mantido em freezer a -10 °C, no banco de isolados de fungos entomopatogênicos do próprio Laboratório, foi multiplicado em meio para produção de conídios (ME) (extrato de levedura 5 g, mistura de sais 4,6 g, glicose 10 g, ágar 20 g e água 1000 mL), incubados a 26 °C e 12 h de fotofase por 8 a 10 dias. Em seguida, os conídios e micélio foram coletados, raspando-se a superfície do meio de cultura e armazenados em tubos estéreis de vidro, fechados com filme de policloreto de vinila (PVC) a -10 °C pelo período não superior a 10 dias, até a realização dos experimentos (ALVES *et al.*, 1998b).

Para os bioensaios, foram adicionados a estes tubos 10 mL de água destilada estéril contendo Tween® 80 (0,01%). Esta suspensão foi agitada e quantificada em câmara de Neubauer e padronizadas, a fim de se obter a concentração de  $1 \times 10^9$  conídios/mL.

#### 3.2 Obtenção dos Produtos e Extratos

Foram avaliados produtos comerciais alternativos escolhidos por serem utilizados na prática agrícola, principalmente em propriedades orgânicas, como indutores de crescimento e de resistência, inseticidas e/ou repelentes naturais, obtidos em lojas de insumos agrícolas e as concentrações utilizadas foram aquelas estabelecidas nos rótulos dos produtos, a metade e o dobro da mesma (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos comerciais utilizados nos experimentos com respectiva composição, concentração e atividade biológica.

Produto	Composição/Nome científico <sup>1</sup>	Concentração Recomendada/ha <sup>2</sup>	Atividade
Agro-Mos <sup>®</sup>	parede celular de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> /mananoogossacarídeos	200mL/100L H <sub>2</sub> O	indutor de resistência
Agro-Fos	composto de sólidos de fermentação, rico em nutrientes, aminoácidos, vitaminas e fosfito	200mL/100L H <sub>2</sub> O	indutor de resistência
Bion <sup>®</sup>	acibenzolar-s-metílico: 500 g/kg	80g/100L H <sub>2</sub> O	indutor de resistência
Biogermex <sup>®</sup>	extratos cítricos	200mL/100L H <sub>2</sub> O	indutor de resistência
Óleo de Citronela	citronelal, geraniol, limoneno e citronelol	1L/100L H <sub>2</sub> O	repelente natural
Forth	Rotenone	3 mL/1 L H <sub>2</sub> O	inseticida
Pironim <sup>®</sup>	azadiractina, rotenona, piretro natural, pirolenhoso	600mL/100L H <sub>2</sub> O	inseticida
Calda Bordalesa	sulfato de cobre e cal hidratada	1 Kg CuSO <sub>4</sub> + 1Kg Cal /10L H <sub>2</sub> O	fungicida
Planta Clean <sup>®</sup>	extratos vegetais e sais minerais	25mL/1L de H <sub>2</sub> O	fungicida
Calda Sulfocálcia	enxofre + cal hidratada	5 kg S + 2,5 kg de Cal/10L H <sub>2</sub> O	fungicida e bactericida

<sup>1</sup>Informações contidas nos rótulos dos produtos; <sup>2</sup>Concentração recomendada pelo fabricante

Foram também avaliados extratos aquosos e alcoólicos de plantas, escolhidos por serem utilizados na agricultura orgânica e por causarem efeitos diversos nos insetos tais como repelência, alterações fisiológicas e metabólicas e por terem ação fungicida (Tabela 2). Também foram utilizados basidiocarpos do fungo *Pycnoporus sanguineus* (conhecido também por orelha de pau), utilizado como indutor de resistência em plantas (VIECELLI *et al.*, 2009) testados na concentração de 10%.



Tabela 2. Plantas utilizadas nos tratamentos, nome popular, partes utilizadas e atividade biológica.

Nome científico	Nome popular	Partes utilizadas	Atividade
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	folhas	repelente de insetos
<i>Cymbopogon citratus</i>	Capim Cidreira	folhas	repelente de insetos
<i>C. winterianus</i>	Citronela	folhas	repelentes de insetos
<i>Laurus nobilis</i>	Louro	folhas	repelentes de insetos
<i>Azadirachta indica</i>	Nim	folhas	repelente de insetos
<i>Ricinus communis</i>	Mamona	folhas	repelente de insetos
<i>Melia azedarach</i>	Cinamomo	folhas	inseticida
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto	folhas	inseticida
<i>Ruta graveolens</i>	Arruda	folhas	inseticida
<i>Curcuma longa</i>	Curcuma	raiz	fungicida
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Canela	folhas	fungicida e inseticida
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Orelha de pau	basidiocarpos	indutores de resistência

Para obtenção dos extratos, as diferentes partes das plantas (folhas e raiz) foram coletadas na região Oeste do Paraná, no período matutino e transferido para estufa de secagem regulada para 40 °C, onde permaneceram entre 3 a 6 dias, dependendo da planta. Uma exsicata de cada planta foi enviada ao Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná para a identificação botânica e o registro do exemplar *voucher*.

Posteriormente, no Laboratório de Farmacognosia da Unioeste, o material seco foi moído em moinho de facas até granulometria inferior a 0,42 mm, e o pó obtido foi armazenado em recipientes de vidro protegido com papel alumínio hermeticamente fechados, em temperatura ambiente, até seu uso na elaboração dos extratos.

Para a obtenção do extrato alcoólico foi utilizado o etanol P.A. como solvente extrator, na proporção de 50 g de pó : 500 mL do solvente, permanecendo em temperatura ambiente e ao abrigo da luz no período de 10 dias, sendo agitado 1 vez por dia. No décimo dia, foi realizada a filtração da solução extratora em papel filtro estéril (com poros aproximadamente de 8 µm), e colocou-se o filtrado obtido em um balão previamente pesado. O balão foi levado ao rotoevaporador, afim de, se retirar o solvente.

Com a retirada de todo o solvente, restou apenas no balão resíduo sólidos, o qual foi pesado novamente e adicionada água destilada e autoclavada ao balão, seguindo a

proporção do seu peso, retomando a concentração de 10% da solução, sendo realizada a esterilização a vácuo com membrana de porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ , em seqüência, a solução final foi armazenada em frascos de vidro estéreis, identificados, hermeticamente fechados e conservados em *freezer* com temperatura de 0°C sendo denominado então: “extrato alcoólico a 10%” (Figura 1).

Para obtenção do extrato aquoso, foi utilizada água destilada estéril como solvente extrator, sendo adicionado 10 g de pó: 100 mL de água, permanecendo 48 horas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo agitado 1 vez por dia. Após esse período, foi realizada a filtração em gaze e papel filtro estéreis (poros aproximadamente de 8  $\mu\text{m}$ ), e esterilização a vácuo com membrana de porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ , a solução final foi armazenada em frascos estéreis, identificados, hermeticamente fechados e conservados em *freezer* com temperatura de 0 °C sendo denominado então: “extrato aquosos a 10%”.

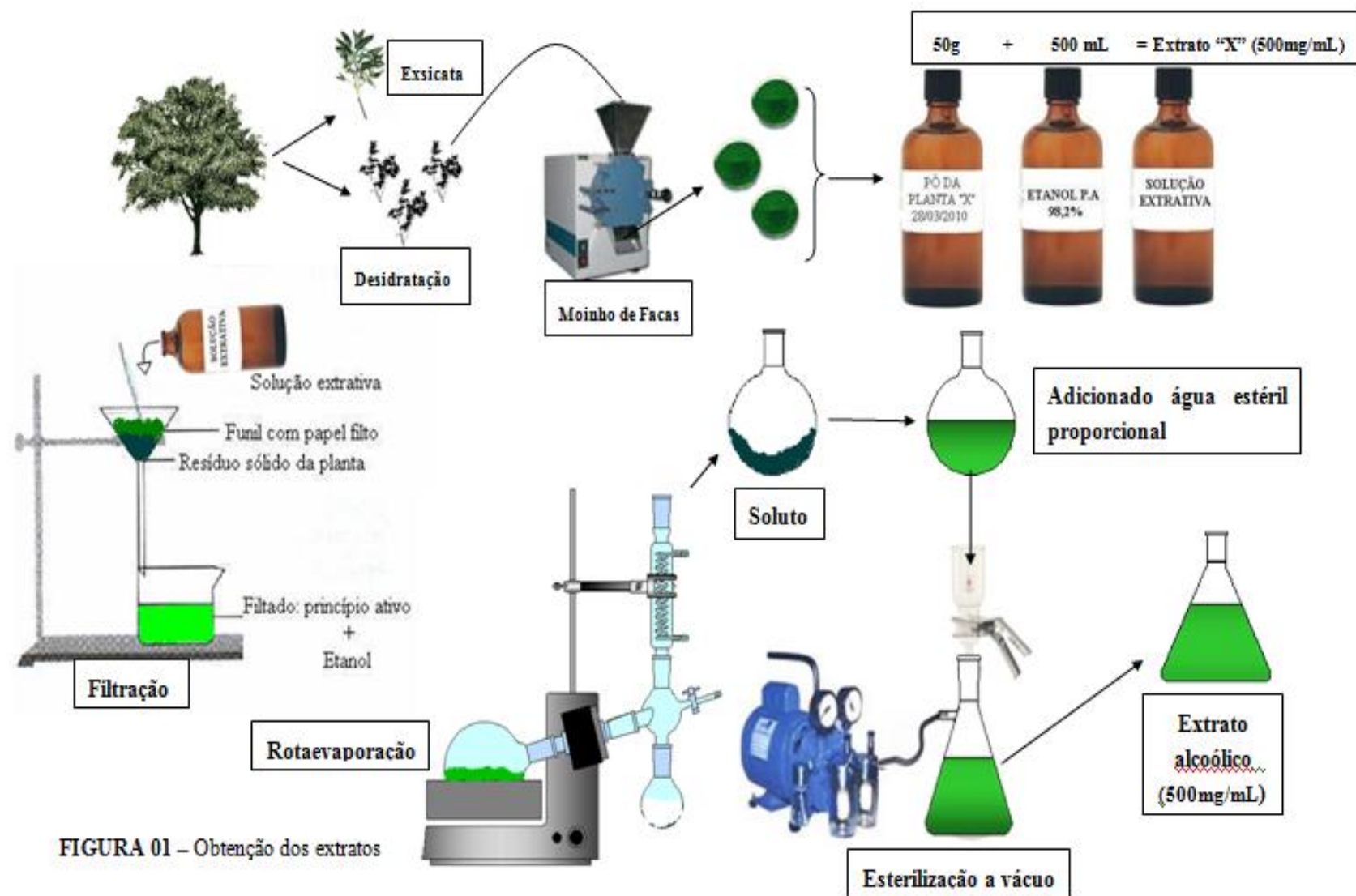


FIGURA 01 – Obtenção dos extratos

### 3.2.1 Obtenção de extrato bruto aquoso de *P. sanguineus*

Para o preparo do extrato de *P. sanguineus* foi utilizada a metodologia desenvolvida por Viecelli *et al.* (2010). O preparo consiste na hidratação do pó seco de basidiocarpos por 24 horas a temperatura de 4 °C, na proporção de 14 mL de água destilada : 1 g de pó seco de basidiocarpo, sendo em seguida filtrados em papel filtro Whatman n<sup>o</sup> 1.

O filtrado foi submetido à esterilização em sistema Milipore com membrana de 0,45 µm de diâmetro de poro, em câmara de fluxo laminar, sendo armazenado a 4 °C e utilizados para obter a concentração de 10% para os testes *in vitro*.

### 3.4 Avaliações dos Parâmetros Biológicos

Foram avaliados os parâmetros biológicos relativos à germinação dos conídios, unidades formadoras de colônias, crescimento vegetativo e produção de conídios no sentido de identificar prováveis efeitos dos produtos sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, conforme estudos desenvolvidos por Alves *et al.* (1998), Silva; Neves (2005) e Oliveira (2009).

A) Germinação: o meio de cultura (Batata Ágar Dextrose – BDA, à base de batata 200 g, dextrose 20 g, ágar 15 g e 1000 mL de água destilada ou ME), estéril contendo antibiótico estreptomicina 0,05g, foi vertido em placas de Petri, sendo 5 placas cada tratamento. Depois de solidificado, foram inoculados no centro da placa 300 µL da suspensão do fungo contendo  $1,65 \times 10^6$  conídios/mL, utilizando-se um pipetador automático e a placa levemente agitada para espalhar a suspensão sobre o BDA sem a alça de Drigalsky. Em seguida, foi feita a pulverização dos produtos nas diferentes concentrações através de um pulverizador acoplado a um compressor de ar, sob pressão constante de 12 libras de saída, sendo 250 µL para cada repetição.

As placas foram mantidas por 16 horas em câmara climatizada e 12 horas de fotofase e após este período foi feita a contagem do número de conídios germinados e não-germinados através de microscópio óptico, com um aumento de 400 vezes, focando-se diretamente quatro campos no centro de cada placa, totalizando-se quatro contagens e aproximadamente 200 conídios em média/placa. Conídios que apresentaram o tubo germinativo com o comprimento igual ou maior do que o diâmetro foram considerados viáveis.

B) Unidades Formadoras de Colônia (UFC): crescimento das UFC foi avaliado inoculando-se 100 µL da suspensão dos isolados ( $1 \times 10^3$  conídios/mL) em BDA, sendo cinco placas de Petri por tratamento. Em seguida, o produto foi pulverizado como descrito no item A. As placas permaneceram em câmara climatizada durante cinco dias em 26 °C e 12 h de fotofase, visando a contagem das colônias formadas.

C) Crescimento vegetativo: o fungo foi inoculado com uma alça de platina em três pontos na superfície do meio de cultura BDA, sendo preparadas cinco placas para cada tratamento. A pulverização dos produtos foi feita após 48 h a fim de evitar a remoção dos conídios. As placas foram incubadas a 26°C e 12 h de fotofase, durante sete dias. Foram feitas duas medidas perpendiculares das colônias, visando-se obter o diâmetro médio destas.

D) Produção de conídios: após a avaliação do crescimento vegetativo, duas colônias de cada uma das placas foram recortadas e transferidas individualmente para tubos de vidro estéril, onde foram adicionados 10 mL de água destilada com Tween 80 0,01% para agitação, até o desprendimento dos conídios. Em seguida, procedeu-se a contagem dos conídios em câmara de Neubauer. Foi realizada uma média da contagem das duas colônias recortadas. Para cada um dos tratamentos foram preparadas cinco placas, cada uma considerada uma repetição.

Para cada tratamento, foi preparada ainda, a testemunha, que consistiu apenas da inoculação da suspensão do fungo em meio de cultura BDA e da pulverização de água destilada sobre ele.

### 3.4 Análises dos Dados

Os dados obtidos dos diferentes parâmetros biológicos dos isolados com os produtos comerciais foram analisados quanto à variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott, ambos com 5% de significância, utilizando o programa Sisvar (FERREIRA, 2007).

Utilizou-se o teste de Dunnett a 5% para fazer comparações múltiplas onde apenas um tratamento serve de referência (testemunha) para comparação dos outros tratamentos (produtos fitossanitários).

A variação percentual dos parâmetros avaliados para os produtos foi realizado em relação aos valores médios da testemunha.

Com relação aos extratos aquosos e alcoólicos, os dados obtidos foram analisados quanto a variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott, ambos com 5% de significância, utilizando o programa Sisvar (FERREIRA, 2007).

A compatibilidade entre os tratamentos e o fungo foi baseada em um cálculo de toxicidade proposto por Rossi-Zalaf *et al.* (2008):

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}, \text{ onde:}$$

IB= Índice Biológico; CV= porcentagem do crescimento vegetativo da colônia após 7 dias, em relação à testemunha; ESP= porcentagem da esporulação das colônias após 7 dias, em relação à

testemunha; GER= porcentagem de germinação dos conídios após 16 h, visto que os valores de CV, ESP e GER devem ser previamente corrigidos em relação às respectivas testemunhas. Os valores do IB ( $p=0,05$ ) para a classificação dos produtos foram: Tóxico 0-41; Moderadamente Tóxico 42-66 e Compatível > 66.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito de Defensivos Agrícolas Naturas sobre Parâmetros Biológicos de *Metarhizium anisopliae*

#### 4.1.1 Produtos comerciais

De maneira geral, os produtos comerciais alternativos causaram diferentes efeitos, principalmente, em relação à viabilidade de conídios e quantidade de UFC formada.

Em relação à viabilidade, verificou-se que na 0,5 CR apenas a ação do produto Forth não foi significativa em relação à testemunha, para a CR os produtos Forth e Agro-mos<sup>®</sup> também não diferiram significativamente, no entanto no 2CR todos os produtos avaliados apresentaram médias significativamente menores que a testemunha (Tabela 3). Forth foi o produto que menos interferiu na viabilidade do fungo *M. anisopliae*, com uma média de 5,7% nas doses avaliadas.

O produto que mais afetou a viabilidade do fungo em todas as doses avaliadas foi a Calda Sulfocálcica que apresentou na 2CR uma redução de 73,25%. No entanto, Bion<sup>®</sup>, Planta Clean<sup>®</sup>, Pironim<sup>®</sup>, Óleo de Citronela e Calda Bordalesa também tiveram influência na viabilidade do fungo entre 20 a 40% nas doses avaliadas, sendo verificado que todos esses produtos diferem estatisticamente da testemunha que apresentou em média 96% de viabilidade. Os demais produtos causaram redução próxima de 10 a 20% (Tabela 3).

O efeito negativo da calda Sulfocálcica sobre viabilidade deve ter ocorrido devido à presença de polissulfetos de cálcio que proporciona ação fungicida. Nesse sentido, estudos realizados por Sosa-Gomez *et al.* (2003), em relação a compatibilidade de produtos agroquímicos sobre fungos entomopatogênicos demonstram que o produto Kumulus DF, à base de enxofre, inibiu a germinação de conídios de *Nomuraea rileyi*, em mais de 90%, corroborando dados deste trabalho.

Observou-se que a Calda Bordalesa no 2CR reduziu a viabilidade em 36%, diferindo estatisticamente da 0,5CR e da CR, que resultaram em redução percentual menor (28 e 26%). A Calda Bordalesa, é composta por cal hidratada e sulfato de cobre, o qual é muito utilizado na agricultura por ser considerado antifúngico (Tabela 3).

O efeito de cobre sobre médias de crescimento, esporulação e viabilidade de *Lecanicillium lecanii* foi também verificada por Wenzel *et al.* (2008), quando analisaram a compatibilidade do agrotóxico Cuprozeb, à base de oxiclureto de cobre, obtendo 91% de conídios viáveis e, apesar da influência do fungicida no crescimento das colônias e também na esporulação do fungo, os conídios produzidos não tiveram sua capacidade de germinação afetada divergindo deste trabalho, apesar de não terem estudado sulfato de cobre.

O produto Planta Clean<sup>®</sup> na CR apresentou maior redução percentual (26%) na viabilidade, contudo não houve diferença entre as doses avaliadas. Este produto é constituído por extratos vegetais, ácidos graxos e sais minerais carbonatados, que lhe conferem caráter fungicida e inseticida (MATTIELO, 2010).

Bion<sup>®</sup>, em todas as doses avaliadas causou redução percentual em torno de 35% em relação à viabilidade. Ressalta-se que o produto é um indutor de resistência vegetal, no qual possui em sua composição o acibenzolar-S-metil um análogo do ácido salicílico. Trabalhos realizados com a indução de resistência de plantas demonstram que o acibenzolar-S-metil, age diretamente sobre a planta e não sobre o patógeno, ativando mecanismos de defesa da planta como aumento da atividade de enzimas relacionadas a vias secundária do metabolismo e síntese de fitoalexinas (Resende *et al.*, 2002), dificultando a discussão já que não há trabalhos relacionados a aplicação do produto diretamente sobre algum entomopatógeno (Tabela 3).

Pironim<sup>®</sup> na 0,5 CR e no CR apresentaram uma redução percentual de 23,8 e 23,6%, respectivamente, no entanto para o 2CR essa variação foi maior 28%, porém não houve diferença estatística entre as concentrações. O Pironim<sup>®</sup> possui em sua formulação, óleo de nim (*Azadirachta indica*), planta que dentre seus diversos usos, tem ação antimicrobiana (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Resultados semelhantes foram encontrados por Formentini (2009), que utilizou o produto Dallnem<sup>®</sup>, também a base de óleo de nim, e observou reduções de aproximadamente 20 e 15%, na 1/2CR e CR, respectivamente.

Hirose *et al.* (2001) determinaram a ação inibitória do óleo de nim (2%) sobre a germinação dos conídios de *B. bassiana* CG 252 e de *M. anisopliae* CB 38 e também observaram redução na germinação dos fungos de 45, 72 e 17, 42%, respectivamente, corroborando com este trabalho.

Óleo de citronela também reduziu a viabilidade em todas as concentrações estudadas, numa média de 22,3%. Contudo, há ausência de trabalhos que discutem o efeito do óleo de citronela sobre fungos entomopatogênicos, o que dificulta a discussão dos resultados, sendo verificado estudos para controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto a indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores.



Tabela 3. Médias ( $\pm$  EPM) da viabilidade de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$  fotofase de 12 horas).

	Viabilidade						
	0	0,5 CR	Variação %	CR	Variação %	2 CR	Variação %
Agro-mós <sup>®</sup>	95,9	83,1 $\pm$ 0,99 Bb *	-13,34	89,8 $\pm$ 1,64 Aa	-6,37	75,1 $\pm$ 0,79 Bc *	-21,68
Agro-fos		85,7 $\pm$ 2,01 Ba*	-10,69	82,7 $\pm$ 1,93 Ba*	-13,81	84,9 $\pm$ 1,13 Aa*	-11,52
Bion <sup>®</sup>		62,7 $\pm$ 1,54 Da*	-34,57	61,2 $\pm$ 0,88 Da*	-36,18	60,4 $\pm$ 1,09 Da *	-36,98
Biogermex <sup>®</sup>		85,9 $\pm$ 1,16 Ba*	-10,41	85,7 $\pm$ 1,30 Aa*	-10,62	83,8 $\pm$ 1,54 Aa*	-12,64
Ó. de Citronela		75,4 $\pm$ 3,55 Ca*	-21,34	77,4 $\pm$ 1,04 Ba*	-19,33	70,9 $\pm$ 2,62 Ca*	-26,11
Forth		91,9 $\pm$ 0,75 Aa	-4,23	91,6 $\pm$ 0,78 Aa	-4,52	88,0 $\pm$ 0,83 Aa*	-8,26
Pironim <sup>®</sup>		73,0 $\pm$ 2,75 Ca*	-23,83	73,3 $\pm$ 1,72 Ca*	-23,55	68,9 $\pm$ 1,49 Ca*	-28,20
C. Bordalesa		68,8 $\pm$ 1,93 Ca*	-28,24	70,3 $\pm$ 3,15 Ca*	-26,69	61,2 $\pm$ 3,31 Db*	-36,18
Planta Clean <sup>®</sup>		74,2 $\pm$ 2,10 Ca*	-22,59	70,3 $\pm$ 1,34 Ca*	-26,65	77,2 $\pm$ 1,47 Ba*	-19,49
C. Sulfocálcica		60,2 $\pm$ 0,96 Da*	-37,23	53,1 $\pm$ 4,43 Eb*	-45,21	25,6 $\pm$ 3,19 Ec*	-73,25
CV (%)	6,22						
Interação(P*D)	8,50						

Médias ( $\pm$  EPM) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de significância ( $P\leq 0,05$ ).

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste de Dunnett em relação a testemunha.

<sup>1</sup>Concentrações dos produtos: 0 = Testemunha; 0,5 CR = Metade da concentração recomendada; CR = Concentração recomendada; 2CR = Dobro da concentração recomendada

Para o parâmetro UFC observou-se que nas doses avaliadas houve diferenças significativas em relação à testemunha em todos os produtos (Tabela 4).

Entre os produtos que mais afetaram as UFCs, está a Calda Sulfocálcia, em torno de 92,4% na 0,5CR e de 97,4% na CR, e em 100% no 2CR, observando que o produto tem potencial fungicida. Segundo Nene; Thapliyal (1979), as substâncias fungicidas são absorvidas pela célula do fungo, geralmente através do tubo germinativo, uma vez dentro da célula passam a agir sobre as organelas celulares interferindo em suas funções podendo, finalmente, determinar sua morte. Em geral os fungicidas agem nos processos respiratórios, na função da membrana, na síntese protéica, nos processos nucleares e na pigmentação.

Observou-se também que os produtos Planta Clean<sup>®</sup>, Pironim<sup>®</sup>, Óleo de Citronela e Calda Bordalesa também influenciaram as UFCs, reduzindo o percentual entre 25 – 42% nas doses avaliadas, tal observação pode estar relacionada à composição dos produtos, como já foi descrito no parâmetro viabilidade (Tabela 4).

O número de UFC diminuiu em média 20% no 2CR nos produtos Agro-fos e Biogermex<sup>®</sup>, sendo este último produto composto por bioflavanóides, fitoalexinas, polifenóis, glicerina vegetal, ácidos ascórbico, láctico e cítrico (RESENDE *et al.*, 2006).

Bioflavanóides têm capacidade de se ligar com proteínas extracelulares e paredes celulares de bactérias e fungos, inativando-as, podendo também romper membranas (TSUCHIYA *et al.*, 1996), diante do exposto, é provável que essa redução das UFCs pode estar relacionada ao impedimento do processo de germinação e ou a ação dos referidos metabólitos sobre a membrana logo após a germinação, destruindo-a (SILVA, 2010).

Na Calda Bordalesa, o número de UFC sofreu maior redução na CR (41,6%) e na 2CR (42,2%), comprovando assim sua ação fungicida. Essa calda é preparada a partir de sulfato de cobre, a qual é conhecida há muito tempo e sendo utilizada como fungicida na prevenção de várias doenças causadas por fungos em plantas (PENTEADO, 2001).

Além disso, foi observado que os produtos que afetaram a germinação dos conídios, também interferiram na formação das UFCs, exceto os produtos Agro-mos<sup>®</sup> na CR e o produto Forth na 0,5 e na CR, que não diferiram da sua respectiva testemunha, contudo afetaram significativamente o UFC.

Tabela 4. Médias ( $\pm$  EPM) de UFC de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$  fotofase de 12 horas).

	UFC						
	0	0,5 CR	Variação %	CR	Variação %	2 CR	Variação %
Agro-mós	199,40	184,6 $\pm$ 2,01 Aa*	-7,42	181,4 $\pm$ 2,06 Aa*	-9,03	179,6 $\pm$ 1,32 Aa*	-9,93
Agro-fos		179,6 $\pm$ 1,9 Aa *	-9,93	178,8 $\pm$ 2,13 Aa*	-10,33	156,4 $\pm$ 3,52 Cb*	-21,56
Bion		181,8 $\pm$ 2,43 Aa*	-8,83	178,8 $\pm$ 1,56 Aa*	-10,33	170,4 $\pm$ 1,74 Bb*	-14,54
Biogermex		176,0 $\pm$ 1,76 Aa*	-11,74	171,8 $\pm$ 1,77 Aa*	-13,84	160,2 $\pm$ 1,85 Cb*	-19,66
Ó. de Citronela		143,6 $\pm$ 2,78 Ca*	-27,98	145,0 $\pm$ 2,81 Ca*	-27,28	141,4 $\pm$ 4,87 Da*	-29,09
Forth		181,4 $\pm$ 1,28 Aa*	-9,03	178,0 $\pm$ 1,78 Aa*	-10,73	179,2 $\pm$ 1,65 Aa*	-10,13
Pironim		140,4 $\pm$ 1,77 Cb*	-29,59	143,0 $\pm$ 1,22 Cb*	-28,28	149,2 $\pm$ 2,22 Da*	-25,18
C. Bordalesa		151,6 $\pm$ 2,31 Ba*	-24,97	122,2 $\pm$ 0,67 Db*	-41,62	115,2 $\pm$ 2,00 Eb*	-42,23
Planta Clean		144,4 $\pm$ 2,82 Cb*	-27,58	151,4 $\pm$ 2,42 Ba*	-24,27	143,2 $\pm$ 3,52 Db*	-28,18
C. Sulfocálcica		15,2 $\pm$ 2,33 Da*	-92,38	5,2 $\pm$ 0,86 Eb*	-97,39	0,0 $\pm$ 0 Fb*	-100,00
CV (%)	3,89						
Interação(P*D)	8,55						

Médias ( $\pm$  EPM) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de significância ( $P\leq 0,05$ ).

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste de Dunnett em relação a testemunha.

<sup>1</sup>Concentrações dos produtos: 0 = Testemunha; 0,5 CR = Metade da concentração recomendada; CR = Concentração recomendada; 2CR = Dobro da concentração recomendada

Para o diâmetro médio das colônias (Tabela 5), observou-se que nas concentrações avaliadas, apenas o produto Pironim<sup>®</sup> na 0,5DR apresentou significância em relação à testemunha, estimulando o crescimento das colônias (15,70%), já para as outras concentrações o estímulo não foi significativo.

O mesmo foi observado para o produto Planta Clean<sup>®</sup>, que estimulou 10,7% na 0,5CR e de 8,8% no 2CR, porém, não tiveram diferença significativa com a testemunha.

Para o Agro-mos<sup>®</sup>, o estímulo ocorreu na dose 0,5 CR (5%), nas outras doses, esse estímulo não foi tão evidente. Tal como ressaltado, os produtos Bion<sup>®</sup> e Agro-mos<sup>®</sup> são indutores de resistência vegetal e não há trabalhos relacionados a aplicação do produto diretamente sobre algum patógeno, o que dificulta a discussão.

A Calda Sulfocálcica também foi o produto que mais interferiu no diâmetro das colônias, principalmente nas maiores doses, com uma redução percentual em média de 8%, o que evidencia o efeito tóxico da composição de polissulfetos (enxofre+cal) sobre o crescimento do fungo, contudo não foi observada diferença estatística da testemunha (Tabela 5).

Formentini (2009) encontrou resultados semelhantes quando avaliou a compatibilidade do produto Stubble-Aid, sendo o enxofre o componente mais abundante deste produto, e observou-se uma redução de 28% na 0,5CR e de 13% nas doses maiores.

Dos produtos que afetaram a germinação dos conídios, somente o Pironim<sup>®</sup> na 0,5 CR afetou significativamente o diâmetro das colônias.

Tabela 5. Diâmetro médio ( $\pm$  EPM) de colônias de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$  fotofase de 12 horas).

	Diâmetro						
	0	0,5 CR	Variação %	CR	Variação %	2 CR	Variação %
Agro-mós <sup>®</sup>	2,42	2,37 $\pm$ 0,07 Ba	5,37	2,40 $\pm$ 0,04 Aa	1,24	2,41 $\pm$ 0,06 Aa	-0,25
Agro-fos		2,37 $\pm$ 0,03 Ba	-2,56	2,36 $\pm$ 0,06 Aa	-2,15	2,27 $\pm$ 0,02 Ba	-6,12
Bion <sup>®</sup>		2,35 $\pm$ 0,05 Ba	-2,81	2,40 $\pm$ 0,05 Aa	-0,83	2,50 $\pm$ 0,04 Aa	3,22
Biogermex <sup>®</sup>		2,30 $\pm$ 0,09 Ba	-5,37	2,40 $\pm$ 0,04 Aa	-0,91	2,36 $\pm$ 0,05 Ba	-2,40
Ó. de Citronela		2,42 $\pm$ 0,05 Ba	-0,17	2,41 $\pm$ 0,03 Aa	-0,50	2,46 $\pm$ 0,01 Aa	1,49
Forth		2,45 $\pm$ 0,02 Ba	1,16	2,37 $\pm$ 0,05 Aa	-1,90	2,34 $\pm$ 0,05 Ba	-3,14
Pironim <sup>®</sup>		2,80 $\pm$ 0,11 Aa*	15,70	2,50 $\pm$ 0,02 Ab	3,22	2,56 $\pm$ 0,07 Ab	5,95
C. Bordalesa		2,50 $\pm$ 0,09 Ba	3,31	2,46 $\pm$ 0,05 Aa	1,57	2,44 $\pm$ 0,08 Aa	0,66
Planta Clean <sup>®</sup>		2,68 $\pm$ 0,14 Aa	10,66	2,38 $\pm$ 0,06 Ab	-1,57	2,63 $\pm$ 0,10 Aa	8,84
C. Sulfocálcica		2,36 $\pm$ 0,11 Ba	-2,40	2,21 $\pm$ 0,08 Aa	-8,60	2,24 $\pm$ 0,03 Ba	-7,60
CV (%)	6,45						
Interação(P*D)	1,41						

Médias ( $\pm$  EPM) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de significância ( $P \leq 0,05$ ).

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste de Dunnett em relação a testemunha.

<sup>1</sup>Concentrações dos produtos: 0 = Testemunha; 0,5 CR = Metade da concentração recomendada; CR = Concentração recomendada; 2CR = Dobro da concentração recomendada

Na produção de conídios, observou-se que na 0,5 CR apenas os produtos Planta Clean<sup>®</sup> e Calda Bordalesa apresentaram diferença significativa em relação à testemunha. Na CR, foram os produtos Planta Clean<sup>®</sup>, Pironim<sup>®</sup> e Calda Bordalesa e Sulfocálcica e no 2CR somente a Calda Sulfocálcica (Tabela 6).

De maneira geral, a maioria dos produtos avaliados apresentou estímulo na produção de conídios, sendo que, os produtos Planta Clean<sup>®</sup>, Pironim<sup>®</sup>, Óleo de Citronela e Calda Bordalesa contribuíram com um aumento entre 23 – 53% na conidiogênese, em todas as concentrações. O produto Forth teve um comportamento diferenciado apresentando um aumento de 40% no 2CR. Por outro lado, a Calda sulfocálcica novamente foi o produto que ocasionou as maiores reduções na produção de conídios em todas as concentrações testadas, diminuindo-a em mais da metade da observada na testemunha (Tabela 6).

Ressalta-se a dificuldade de discussão dos dados para esses produtos, uma vez que não há trabalhos relacionados à sua atividade sobre algum patógeno, nem tampouco sobre os fungos entomopatogênicos.

Dos produtos que afetaram a viabilidade, somente Planta Clean<sup>®</sup> (0,5 CR e CR), Pironim<sup>®</sup> (CR), Calda Bordalesa (0,5 CR e CR) e Calda Sulfocálcica (CR e 2CR), interferiram na produção de conídios, diferindo também da testemunha.

Esse aumento na produção de conídios estimulado por alguns produtos pode ter acontecido devido à degradação e metabolização dos princípios tóxicos das moléculas químicas pelo fungo (ALVES, 1998).

Ainda, Moino Jr. *et al.* (1998) argumentam que o microrganismo, num mecanismo de resistência fisiológica, pode metabolizar os princípios tóxicos do ingrediente ativo, utilizando as moléculas resultantes desse processo, liberadas no meio de cultura, como nutrientes secundários, promovendo seu crescimento vegetativo e a conidiogênese. Também, que o fungo, numa atividade comparável ao que ocorre com seres vivos em geral, utilize todo seu esforço reprodutivo quando em presença de um princípio tóxico que altera seu ambiente, e prejudica o seu desenvolvimento, resultando assim, em maior crescimento vegetativo e conidiogênese.

Tabela 6. Médias ( $\pm$  EPM) da produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), em contato com diferentes produtos comerciais ( $26\pm 1^\circ\text{C}$  fotofase de 12 horas).

Produtos	Produção de Conídios ( $10^6$ )						
	0	0,5 CR	Variação %	CR	Variação %	2 CR	Variação %
Agro-mós	41,83	37,00 $\pm$ 3,24 Ba	-11,54	39,78 $\pm$ 2,13 Ba	9,44	46,82 $\pm$ 1,39 Aa	11,91
Agro-fos		37,7 $\pm$ 1,92 Ba	-9,66	42,5 $\pm$ 1,26 Ba	1,60	45,8 $\pm$ 4,05 Aa	9,71
Bion		47,5 $\pm$ 5,08 Ba	13,65	54,4 $\pm$ 4,55 Aa	30,14	40,8 $\pm$ 1,68 Aa	-2,36
Biogermex		38,3 $\pm$ 1,96 Ba	-8,28	46,3 $\pm$ 4,98 Aa	10,90	40,0 $\pm$ 3,49 Aa	4,30
Ó. de Citronela		55,8 $\pm$ 5,59 Aa	33,52	51,5 $\pm$ 1,31 Aa	23,24	43,2 $\pm$ 2,22 Aa	3,48
Forth		41,8 $\pm$ 2,49 Bb	-0,03	36,6 $\pm$ 2,46 Bb	-12,40	58,8 $\pm$ 8,95 Aa	40,55
Pironim		55,8 $\pm$ 5,70 Aa	33,49	61,8 $\pm$ 7,25 Aa*	47,83	55,3 $\pm$ 3,72 Aa	32,30
C. Bordalesa		63,8 $\pm$ 5,25 Aa*	52,61	59,7 $\pm$ 3,54 Aa*	42,85	52,2 $\pm$ 7,76 Aa	24,80
Planta Clean		62,4 $\pm$ 5,10 Aa*	49,32	60,0 $\pm$ 4,24 Aa*	43,47	47,7 $\pm$ 5,19 Aa	14,19
C. Sulfocálcica		30,9 $\pm$ 2,60 Ba	-26,08	14,6 $\pm$ 3,38 Cb*	-65,07	37,8 $\pm$ 1,92 Aa*	-56,57
CV (%)	26,82						
Interação(P*D)	1,87						

Médias ( $\pm$  EPM) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de significância ( $P\leq 0,05$ ).

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste de Dunnett em relação a testemunha.

<sup>1</sup>Concentrações dos produtos: 0 = Testemunha, 0,5 CR = Metade da concentração recomendada; CR = Concentração recomendada; 2CR = Dobro da concentração recomendada

Quanto à toxicidade dos produtos, segundo Alves *et al.* (2007), conclui-se que todas as concentrações dos produtos comerciais, são compatíveis ao fungo, com exceção apenas da Calda Sulfocálcica na CR e no 2CR, que foram consideradas moderadamente tóxica (Tabela 7).

Vale ressaltar que a toxicidade está baseada no índice T (IB), que leva em consideração os valores médios em porcentagem de esporulação, crescimento micelial e germinação dos conídios (ALVES *et al.*, 2007). Entretanto quase todos os trabalhos descritos avaliaram somente a influência dos produtos sobre o crescimento vegetativo e a esporulação, não considerando a germinação.

Tabela 7. Valores de Toxicidade (IB) e classificação dos produtos comerciais quanto à compatibilidade a *Metarhizium anisopliae* (isolado Unioeste 22).

Tratamento	Concentração	Valor IB <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>
Agro-mos <sup>®</sup>	0,5CR	96,23	Compatível
	CR	104,00	Compatível
	2CR	102,76	Compatível
Agro-fos	0,5 CR	93,61	Compatível
	CR	98,33	Compatível
	2CR	100,10	Compatível
Bion <sup>®</sup>	0,5 CR	101,04	Compatível
	CR	108,95	Compatível
	2CR	96,84	Compatível
Biogermex <sup>®</sup>	0,5 CR	92,86	Compatível
	CR	103,23	Compatível
	2CR	95,71	Compatível
Óleo de Citronela	0,5 CR	112,28	Compatível
	CR	107,87	Compatível
	2CR	99,66	Compatível
Forth	0,5CR	100,13	Compatível
	CR	93,24	Compatível
	2CR	115,05	Compatível



Pironim <sup>®</sup>	0,5 CR	119,39	Compatível
	CR	119,76	Compatível
	2CR	113,79	Compatível
C. Bordalesa	0,5 CR	121,34	Compatível
	CR	116,53	Compatível
	2CR	107,43	Compatível
Planta Clean <sup>®</sup>	0,5 CR	124,00	Compatível
	CR	115,25	Compatível
	2CR	108,23	Compatível
C. Sulfocálcica	0,5 CR	83,89	Compatível
	CR	63,41	Moderadamente tóxico
	2CR	64,85	Moderadamente tóxico

<sup>1</sup>Concentrações dos produtos: 0,5 CR = Metade da dose recomendada; CR = Dose recomendada; 2CR = Dobro da dose recomendada.

<sup>2</sup>Valores de IB, segundo Alves *et al.* (2007): entre 0 a 41 = tóxico; entre 42 e 66 = Moderadamente tóxico; maiores que 66 = compatível

Nesse sentido, Neves *et al.* (2001) discutem a importância da viabilidade no estudo da compatibilidade considerando que a inibição desta etapa inicial afetará todo o desenvolvimento do fungo, visto que este estágio é o que realmente entra em contato com o patógeno em campo.

Contudo, a fórmula de toxicidade atribui 47% do seu peso ideal para o crescimento vegetativo, 43% para a esporulação e apenas 10% para a viabilidade. Desta forma, é possível compreender a semelhança entre os valores de toxicidade para todos os produtos exceto a Calda Sulfocálcica, já que as médias de crescimento vegetativo e produção de conídios não apresentaram grandes variações entre os produtos, sendo estes dois parâmetros os mais significativos para a verificação ou não de compatibilidade.

Assim, os produtos Bion<sup>®</sup>, Agro-Mos<sup>®</sup>, Agro-Fos, Forth, Biogermex<sup>®</sup>, Planta Clean<sup>®</sup>, Pironim<sup>®</sup>, Óleo de Citronela e Calda Bordalesa que se apresentaram compatíveis ao entomopatógeno, em todas as concentrações testadas, mas os produtos Planta Clean<sup>®</sup>, Pironim<sup>®</sup> e Calda Bordalesa apresentaram altos valores de T devido à elevada produção de conídios do fungo em todas as concentrações do produto, alcançando valores acima de 66 (valor para que o produto seja compatível).

No entanto, o tratamento com Calda Sulfocálcica foi considerado compatível com o fungo somente na concentração mais baixa do produto (0,5CR), enquanto que na CR e no 2CR foi classificado como moderadamente tóxico ao entomopatógeno.

Em estudos realizados por Castiglioni *et al.* (2003), o Nimkol-L<sup>®</sup>, produto feito à base de folhas de azadiractina, foi classificado como compatível com *M. anisopliae* na concentração de 1%, corroborando este trabalho, visto que o produto Pironim<sup>®</sup> mostrou-se compatível ao fungo em todas as doses testadas, estes produtos possuem em sua composição azadiractina.

Contudo, ao analisar a tabela de viabilidade (Tabela 3) observa-se que quase todos os produtos interferiram na germinação do fungo com reduções percentuais variando de 4 a 73%, porém, a fórmula de toxicidade atribui somente 10% do seu peso ideal para a viabilidade.

Entretanto, apesar dos produtos se apresentarem compatíveis, deve-se ter o cuidado para não se utilizar em conjunto com aqueles que afetam significativamente a viabilidade dos conídios, pois pode comprometer o sucesso do MIP devido à baixa viabilidade do fungo.

Relacionando-se os valores percentuais de crescimento vegetativo e produção de conídios de *M. anisopliae* na presença dos produtos comerciais, verificou-se a influência sobre ambos os parâmetros, principalmente para a produção de conídios, que foi estimulada. Como a fórmula atribui pesos maiores a estes parâmetros, logo se percebe o porquê dos produtos serem compatíveis.

Poucos estudos têm sido realizados em relação ao efeito de produtos fitossanitários alternativos sobre fungos entomopatogênicos, uma vez que a maioria dos trabalhos referentes ao efeito de produtos fitossanitários sobre fungos é conduzida com produtos sintéticos.

#### 4.1.2 Extratos aquosos

Observou-se que dentre os parâmetros biológicos avaliados, viabilidade, UFC, crescimento vegetativo e produção de conídios, os mais afetados pelos extratos aquosos foram UFC e produção de conídios (Tabela 8).

O extrato de eucalipto influenciou a viabilidade e as UFCs do fungo, com uma redução percentual de 13,6 e 34,7%, respectivamente. Contudo, o crescimento vegetativo das colônias e sua conidiogênese não diferiram significativamente da testemunha, observando-se um estímulo nesses parâmetros, de 7,8 e 12,64%, respectivamente (Tabela 8).

Estudos realizados por Rodrigues *et al.* (2006) e Formentini (2009), avaliando, respectivamente, a atividade antimicrobiana do extrato de eucalipto sobre *Helminthosporium* sp. (Moniliales) e *M. anisopliae*, observaram redução do crescimento vegetativo, divergindo deste trabalho, provavelmente por terem sido empregados métodos diferentes, além das propriedades do extrato, decorrente do estado nutricional da planta, entre outros fatores.

*Eucalyptus* é um importante gênero da família Myrtaceae, sendo o *E. citriodora* uma das espécies mais importantes devido ao composto citronelal, cuja concentração varia de 65 a 85% na planta. Ainda, são encontrados também taninos, ácidos gálico, glicólico e glicérico, princípios amargos, compostos flavônicos, derivados da cumarina, cera e resina, responsáveis pelas propriedades medicinais e antimicrobianas (COSTA *et al.*, 1986; ESTANISLAU *et al.*, 2001; VITTI & BRITO, 2003).

Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos de diferentes plantas têm identificado diversas atividades biológicas dessa classe de substâncias, dentre essas podem se citar ação bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991).

Existem algumas hipóteses para a redução causada pelo extrato de eucalipto na viabilidade e UFC do fungo, já que esta planta possui em sua composição taninos. A primeira seria que os taninos inibem as enzimas do fungo, e/ou se unam aos substratos dessas enzimas, a segunda, seria que esses mesmos taninos estariam agindo sobre a membrana celular dos fungos, alterando seu metabolismo (SIMÕES *et al.*, 2002).

Porém, ao se observar o estímulo no crescimento micelial e na produção de conídios, pode estar havendo um esforço reprodutivo do fungo, quando este encontra um componente tóxico que altera o seu desenvolvimento, resultando assim, em maior crescimento vegetativo e conidiogênese, tal como observaram Moino Jr. *et al.* (1998), ao estudarem a ação tóxica de defensivos utilizados na cultura dos citros sobre fungos entomopatogênicos

O extrato de capim cidreira foi considerado prejudicial para a germinação dos conídios, uma vez que houve diferença significativa entre o tratamento e controle. O desenvolvimento das UFC que tiveram contato com este extrato também diferiu da testemunha, já que a redução percentual foi de 42% para a viabilidade e de 33% para UFC. Quanto ao crescimento vegetativo e esporulação, verificaram-se colônias 7,2% menores, diferindo da testemunha, e uma redução de 26,6% na produção de conídios (Tabela 8).

Rozwalka *et al.* (2008), utilizando-se o extrato de capim cidreira a 10% misturado em BDA, observaram redução do crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides* (Melanconiales), corroborando com o resultado deste trabalho. Da mesma forma, o efeito fungitóxico do óleo essencial de capim cidreira foi comprovado para este fungo e, também, para o controle de *Glomerella cingulata* (Diaportales), apresentando inibição de 100% do crescimento micelial para ambos os fungos até o quinto dia.

A ação negativa do capim cidreira sobre os parâmetros avaliados de *M. anisopliae* pode ser explicada pela grande quantidade do composto saponina, encontrado no extrato aquoso das folhas. A saponina tem a capacidade de formar complexos com proteínas e fosfolípídeos de membranas, alterando a sua permeabilidade, ou causando sua destruição (SIMÕES *et al.*, 2002).

Em relação ao extrato de arruda, assim como ocorreu com os demais extratos vegetais, a viabilidade dos conídios e formação de UFC de *M. anisopliae* foram afetadas se comparadas a testemunha. O crescimento vegetativo das colônias do fungo foi cerca de 7,6% menor nas colônias que se desenvolveram na presença deste extrato, apresentando diferença significativa em relação com a testemunha. A produção de conídios sofreu redução de 24,3% se comparado com a testemunha, diferindo significativamente (Tabela 8).

Estudos realizados por Pedroso *et al.* (2009), analisando o crescimento micelial do fungo *Alternaria solani* (Moniliales) comprovaram que pequenas concentrações (10%) do extrato de arruda, já são suficientes para inibição do crescimento vegetativo, também Celoto *et al.* (2008) verificaram que o extrato aquoso de arruda (20%) inibiu mais de 90% da germinação de esporos do fungo *C. gloeosporioides*.

Nota-se a eficácia da arruda sobre vários fungos fitopatogênicos, que são consideravelmente afetados no crescimento micelial e na germinação, contudo, trabalhos realizados com o fungo *M. anisopliae* ainda não são encontrados na literatura, dificultando a discussão.

O extrato aquoso de folhas de arruda possui em sua composição química alcalóides, flavonóides e taninos, os quais podem ter interferido no desenvolvimento do fungo, alterando a permeabilidade da membrana celular (SIMÕES *et al.*, 2002).

O extrato de mamona reduziu em 15% a viabilidade do fungo, assim como também interferiu na formação das UFCs (22,3%), diferindo de suas respectivas testemunha, porém o crescimento micelial e a produção de conídios não sofreram ação do extrato de mamona, não havendo diferença significativa entre o tratamento e controle.

A mamona possui um composto denominado ricina, o qual é muito tóxico, e age inibindo os ribossomos, interrompendo a síntese protéica (LORD *et al.*, 1994). Este composto pode ter interferido no metabolismo do fungo, reduzindo sua viabilidade e as unidades formadoras de colônias.

Já para o extrato de cinamomo, quanto à germinação e a produção de conídios, não foram observadas diferenças estatísticas do tratamento para a testemunha, contudo observou-se redução na formação de UFC (17%) e no crescimento micelial (1,8%), diferindo da sua respectiva testemunha (Tabela 8).

Milanesi *et al.* (2009) avaliaram o efeito dos extratos de cinamomo (*Melia azeradach*) sobre o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *C. gloeosporioides*, e observaram que o extrato de cinamomo a 10% não se mostrou efetivo no controle do fungo, e ainda observaram estímulo no crescimento micelial do fitopatógeno. Apesar de haver diferença taxonômica entre os fungo citado e o aqui utilizado, o resultado encontrado por Milanesi, corrobora com o do presente trabalho.

Em relação à cúrcuma, a viabilidade dos conídios e formação de UFC foram afetadas se comparadas à testemunha. O crescimento vegetativo das colônias do fungo não diferiu da testemunha, o qual teve um pequeno estímulo de 1,8% e a produção de conídios sofreu redução de 2% se comparado com a testemunha, mas não diferiram significativamente (Tabela 8).

A cúrcuma é uma planta da família Zingiberaceae, conhecida pelo seu emprego nas áreas medicinal e alimentícia devido à presença de corantes, substâncias antioxidantes e antimicrobianas (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000), sendo a curcumina o principal composto do rizoma da cúrcuma (COUTINHO *et al.*, 2004).

O efeito inibitório no crescimento micelial do extrato do rizoma de cúrcuma foi evidenciado para *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*, que pertencem à mesma classe Hyphomycetes, alcançando 60% de redução na concentração de 1% em meio BDA (AMARAL; BARA, 2005).

Contudo, torna-se difícil a comparação entre os trabalhos, pela diferença no método adotado pelos autores citados, os quais incorporaram os extratos em meio BDA.

De acordo com a literatura citada, observa-se a eficácia da cúrcuma sobre vários fungos fitopatogênicos, que são consideravelmente afetados no crescimento vegetativo e na esporulação, sendo estes resultados mais significativos do que os encontrados aqui, apesar da proximidade taxonômica com *M. anisopliae*. Essa redução pode ter sido causada pelo composto saponina, encontrado nas partes vegetais da cúrcuma, a qual pode agir sobre as membranas celulares, tal como discutido para o extrato de capim cidreira.

O extrato das folhas de canela foi prejudicial para a viabilidade, para o crescimento vegetativo e para a produção de conídios, sendo que todos os parâmetros citados diferiram de sua respectiva testemunha (Tabela 8).

Venturoso *et al.* (2011), analisando o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos em diferentes concentrações de extratos de plantas, observaram que o extrato de canela também reduziu o diâmetro da colônia, conforme aumento na concentração do extrato, contudo sem ocorrer total inibição sobre os fungos fitopatogênicos, corroborando com este trabalho.

Andrade *et al.* (2009), estudando o efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial do fungo *Ceratocystis* sp., observaram que apenas o óleo de essencial de canela inibiu 100% o crescimento micelial. Resultados semelhantes com o óleo essencial de canela foram obtidos por Souza *et al.* (2004), que verificaram a eficiência desta na inibição micelial dos fungos *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Eurotium repens* e *Aspergillus niger*. Abreu (2006) e Chagas (2008) também verificaram a ação inibitória deste óleo sobre *Alternaria solani* e *Amphobotrys ricini*, respectivamente.

Contudo, esses estudos foram realizados com o óleo essencial extraído da planta da caneleira, e diferem do presente trabalho que extraiu compostos das folhas secas e moídas, adicionando somente água por 48 horas para extração dos compostos secundários.

Já o extrato aquoso das folhas possui tanino, tal como citado para o extrato de eucalipto possui a propriedade de inibir enzimas dos fungos e até mesmo se ligar as substratos dessas enzimas (SIMÕES *et al.*, 2002).

O extrato de citronela também foi considerado prejudicial para a germinação dos conídios, uma vez que houve redução percentual de 39,5% entre o tratamento e o controle. O desenvolvimento das UFCs também sofreu redução (21,7%), diferindo da testemunha, assim como o crescimento vegetativo (2,70%). Já a produção de conídios, sofreu redução de 11,2%, porém não houve diferença significativa entre o tratamento e o controle.

Vale ressaltar que a maioria dos trabalhos encontrados são com o óleo de citronela, o que dificulta a discussão.

Ainda assim, Lima *et al.* (2010) observaram que nas concentrações superiores a 1500 ppm, o óleo citronela reduziu (100%) a germinação de *C. gossypii* (Melanconiales), fungo responsável pela ramulose, principal doença que ataca o algodoeiro.

Já para o extrato de nim, somente a viabilidade e a UFC sofreram redução significativa em relação a testemunha, com reduções percentuais de 5% e 14%, respectivamente. O crescimento micelial e a produção de conídios não diferiram do controle, e apesar disso, observou-se um estímulo de 5,6% no crescimento das colônias.

Resultados semelhantes foram encontrados por Andrade *et al.* (2009), analisando o crescimento micelial do fungo *Ceratocystis sp.* com o óleo essencial de nim e verificaram que este era maior que o da testemunha.

Quanto aos parâmetros biológicos para o extrato de alecrim, observou-se que todos sofreram diferença estatística com seu controle. Os parâmetros UFC, crescimento vegetativo e produção de conídios sofreram reduções percentuais de 21,6%, 3,4% e 24,3% respectivamente, porém a viabilidade foi estimulada em 3,9%.

Resultados semelhantes foram encontrados por Formentini (2009), que encontrou valores de viabilidade próximos ao verificado na testemunha, corroborando com este trabalho.

O alecrim possui em sua composição química terpeno, que possui característica lipofílica, e compartilha a fase aquosa das estruturas da membrana, causando sua expansão e desordem da estrutura da mesma, além de inibição de enzimas ali embebidas, podendo ser esses efeitos os responsáveis pela atividade antifúngica desse extrato (SIKKEMA *et al.*, 1995), contudo não se sabe ao certo por que a viabilidade foi estimulada.

Quanto ao extrato de louro, somente a viabilidade sofreu diferença significativa com a testemunha, sofrendo uma redução percentual de 8,6%, já os outros parâmetros não diferiram da testemunha.

Milanesi *et al.* (2009) também analisaram o efeito do extrato de louro sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, e verificou que os parâmetros não foram significativos.

O extrato feito com orelha de pau interferiu na viabilidade e na produção de conídios, com uma redução percentual de 13,4% e 39,2%, respectivamente. Já a formação de UFC e o crescimento micelial não diferiram da testemunha.

Viecelli *et al.* (2009) analisaram o efeito das concentrações do extrato de filtrado de cultura de *P. sanguineus* sobre a germinação de esporos, crescimento micelial e esporulação de *P. griseola* e observaram que não apresentaram diferença estatística significativa, corroborando em parte com o encontrado neste trabalho.

Contudo, conforme já mencionado anteriormente, a diferença no método adotado torna difícil a comparação de resultados entre os trabalhos. Estudos sobre a utilização de extratos vegetais e produtos comerciais alternativos sobre fungos entomopatogênicos são escassos, sendo comum sua utilização no controle de microrganismos fitopatogênicos e/ou patogênicos devido às suas propriedades antimicrobianas descritas.

Além disso, Vega *et al.* (1997) verificaram, *in vitro*, o efeito negativo de compostos secundários vegetais sobre a germinação dos blastosporos de *Paecilomyces fumosoroseus*, concluindo que a presença de aleloquímicos em um substrato (cutícula dos insetos ou folhas) pode significar um impedimento para a sobrevivência dos fungos entomopatogênicos.

Tabela 8. Médias ( $\pm$  EPM) da viabilidade, Unidades Formadoras de Colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), em contato com diferentes extratos aquosos de plantas e basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* na concentração de 10% ( $26\pm 1^\circ\text{C}$  fotofase de 12 horas).

Extratos	Viabilidade		UFC		Diâmetro		Produção de conídios	
	(%)	Varição percentual	Média UFC	Varição percentual	( $\text{cm}^2$ )	Varição percentual	( $\times 10^6$ )	Varição percentual
Testemunha	96,9 $\pm$ 0,37 a	0	205,5 $\pm$ 12,64 a	0	3,3 $\pm$ 0,10 a	0	133,0 $\pm$ 11,43 a	0
Alecrim	64,1 $\pm$ 3,16 c	3,86	161,2 $\pm$ 5,21 b	-21,60	3,2 $\pm$ 0,06 b	-3,42	100,7 $\pm$ 7,72 b	-24,25
Capim cidreira	55,8 $\pm$ 2,17 d	-42,43	137,0 $\pm$ 3,08 c	-33,37	3,0 $\pm$ 0,07 b	-7,20	97,5 $\pm$ 15,60 b	-26,65
Citronela	58,6 $\pm$ 4,04 d	-39,49	161,0 $\pm$ 5,75 b	-21,69	3,2 $\pm$ 0,11 b	-2,70	118,0 $\pm$ 17,96 a	-11,24
Louro	88,5 $\pm$ 1,40 b	-8,64	206,8 $\pm$ 16,81 a	0,58	3,4 $\pm$ 0,10 a	3,00	130,2 $\pm$ 10,90 a	-2,06
Nim	82,6 $\pm$ 2,01 b	-4,71	177,4 $\pm$ 10,55 b	-13,72	3,5 $\pm$ 0,08 a	5,58	122,6 $\pm$ 12,86 a	-7,78
Mamona	82,4 $\pm$ 1,67 b	-15,00	159,5 $\pm$ 6,37 b	-22,37	3,4 $\pm$ 0,12 a	4,80	132,4 $\pm$ 4,91 a	-0,44
Cinamomo	92,9 $\pm$ 1,43 a	-4,13	170,5 $\pm$ 7,80 b	-17,02	3,2 $\pm$ 0,15 b	-1,80	132,0 $\pm$ 6,90 a	-0,76
Eucalipto	83,7 $\pm$ 2,47 b	-13,60	134,2 $\pm$ 18,59 c	-34,73	3,5 $\pm$ 0,06 a	7,86	149,8 $\pm$ 7,21 a	12,64
Arruda	87,1 $\pm$ 1,52 b	-10,12	173,4 $\pm$ 2,50 b	-21,60	3,0 $\pm$ 0,09 b	-7,62	100,7 $\pm$ 5,36 b	-24,27
Cúrcuma	80,8 $\pm$ 0,91 b	-16,60	139,0 $\pm$ 11,90 c	-31,61	3,3 $\pm$ 0,06 a	1,80	130,4 $\pm$ 9,52 a	-1,98
Canela	87,8 $\pm$ 1,44 b	-9,35	206,8 $\pm$ 2,92 a	0,58	3,1 $\pm$ 0,05 b	-5,52	101,0 $\pm$ 15,84 b	-24,06
Orelha de pau	83,9 $\pm$ 2,92 b	-13,39	199,8 $\pm$ 3,62 a	-2,82	3,3 $\pm$ 0,16 a	1,98	80,9 $\pm$ 10,79 b	-39,18
CV(%)	6,06		12,58		6,74		21,41	
Fator F	34,60		7,58		2,70		3,05	

Médias ( $\pm$  EPM) seguidas de mesma letra na coluna, para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de significância ( $P\leq 0,05$ ).



Em relação à toxicidade, segundo o cálculo proposto por Alves *et al.* (2007), todos os extratos vegetais aquosos e basidiocarpos de *P. sanguineus* mostraram-se compatíveis ao fungo (Tabela 9).

Tabela 9. Valores de Toxicidade (IB) e classificação dos extratos vegetais aquosos e de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* quanto à compatibilidade a *Metarhizium anisopliae* (isolado Unioeste 22).

Extratos	Valor IB <sup>1</sup>	Classificação
Alecrim	84,62	Compatível
Capim Cidreira	80,90	Compatível
Citronela	89,94	Compatível
Louro	99,65	Compatível
Nim	97,85	Compatível
Mamona	98,30	Compatível
Cinamomo	98,40	Compatível
Eucalipto	107,61	Compatível
Arruda	85,00	Compatível
Cúrcuma	98,33	Compatível
Canela	86,15	Compatível
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	82,80	Compatível

<sup>1</sup>Valores de IB, segundo Alves *et al.*. (2007): entre 0 à 41 = tóxico; entre 42 e 66 = Moderadamente tóxico; maiores que 66 = compatível

Formentini (2009) também encontrou resultados semelhantes quando estudou os extratos de alecrim, eucalipto, capim-limão e cúrcuma sobre *M. anisopliae*, sendo o alecrim o que mais afetou o fungo *M. anisopliae*, porém todos foram compatíveis.

Pires *et al.* (2010) encontraram resultados diferentes ao estudar a compatibilidade de *M. anisopliae* com o extrato de nim, nas concentrações 0,5x e 1x. A incompatibilidade do nim com isolados de *M. anisopliae* já havia sido relatada anteriormente, visto que este produto afetou o crescimento vegetativo, esporulação e germinação de conídios desse entomopatógenos (HIROSE *et al.* 2001, MARQUES *et al.* 2004, ARAUJO Jr. *et al.* 2009).

Contudo, foram utilizadas metodologias diferentes, no qual o extrato foi vertido em placas de BDA, expondo o fungo numa superfície de contato maior.

#### 4.1.3 Extratos alcoólicos

Dentre os parâmetros testados, somente o UFC, não diferiu da testemunha. Os demais parâmetros foram afetados pelos extratos vegetais alcoólicos. Em relação à viabilidade dos conídios produzidos, a testemunha diferiu significativamente de todos os tratamentos, verificando uma redução entre 53 e 84%. O número de UFC formadas na presença dos extratos foi reduzido em relação a sua respectiva testemunha, e apesar da variação percentual em média de 20%, não houve diferença estatística (Tabela 10).

O crescimento vegetativo do fungo em contato com arruda, mamona, cinamomo e nim também foi reduzido entre 5-11%, assim como ocorreu em relação à conidiogênese, cuja produção do fungo decresceu 35%, sendo que ambos diferiram da testemunha (Tabela 10).

O extrato alcoólico de citronela estimulou o crescimento vegetativo em 5,4%, assim como também estimulou a produção de conídios em 13%, entretanto, sua viabilidade foi drasticamente afetada, sendo viável apenas 25% dos conídios produzidos (Tabela 10).

O extrato alcoólico de alecrim também teve sua produção de conídios afetada, em 27%, diferindo de sua testemunha, sendo que dos 73% produzidos, somente 31% estavam viáveis. Neste caso, os ácidos e as demais substâncias que compõem o alecrim, segundo Genema *et al.* (2008), foram as responsáveis por parte da inibição do crescimento do fungo. Estudos semelhantes, mas com o óleo essencial, tem demonstrado potencial antimicrobiano deste extrato sobre fungos fitopatogênicos, como os de Pereira *et al.* (2006) e Itako *et al.* (2008).

Quanto ao eucalipto, sua ação reduziu em 72% a viabilidade dos conídios, bem como reduziu cerca de 23% a quantidade de UFC desenvolvidas, mas houve efeito significativo sobre a viabilidade. O extrato desta planta não afetou o crescimento vegetativo das colônias, e a conidiogênese teve uma redução percentual de apenas 11%, não diferindo da testemunha (Tabela 10).

Em relação aos dados obtidos com o fungo produzido em contato com o extrato de capim-cidreira, verificou-se que a germinação dos conídios foi afetada em 75%. O número de UFC reduzido foi de 28%, quanto ao crescimento vegetativo, não houve diferença estatística, não interferindo também na produção de conídios, porém apenas 25% dos conídios produzidos são viáveis.

Já os dados obtidos com o fungo produzido em contato com o extrato de arruda verificou-se que a germinação dos conídios foi afetada em 76%, o número de UFC produzido foi consideravelmente reduzido em 28% em relação à testemunha.

Quanto ao crescimento vegetativo, foram obtidas colônias em torno de 9% menores que a testemunha, diferindo significativamente. Além disso, observou-se diminuição de 35% na produção de conídios do tratamento com arruda em relação ao controle.

Salvadori *et al.* (2003) relatam que os extratos brutos das folhas de capim-cidreira e arruda, incorporados (25%) em BDA e autoclavados, apresentaram porcentagem de inibição do crescimento micelial para *Colletotrichum gloeosporioides*, respectivamente, 9,5 e 23,5%.

Em relação ao extrato de mamona, verificou-se redução de 69% sobre a germinação, o número de UFC foi reduzido em torno de 22%, e a conidiogênese sofre uma redução percentual de 28%.

O extrato de cúrcuma foi considerado prejudicial somente para o parâmetro viabilidade, sofrendo uma diminuição em torno de 84%. O desenvolvimento das UFC que tiveram contato com este extrato não diferiu significativamente da testemunha.

Outros estudos relacionados à atividade da cúrcuma revelam sua ação bactericida e fungicida para microrganismos de interesse humano (PÉRET-ALMEIDA *et al.*, 2008) e também para fungos fitopatogênicos (AMARAL; BARA, 2005; BALBI-PEÑA *et al.*, 2006). Neste sentido, a eficácia do extrato de cúrcuma para o controle de doenças em plantas deve-se às substâncias antimicrobianas encontradas neste extrato aquoso (CECÍLIO FILHO *et al.*, 2000). Assim como os demais extratos vegetais aqui estudados, desconhecem-se relatos sobre o efeito dessas plantas sobre fungos entomopatogênicos.

O extrato alcoólico de canela reduziu em 74%, a viabilidade do fungo, diferindo da testemunha, já as UFCs, sofreram redução percentual de 31%, porém não diferiu da respectiva testemunha, já a produção de conídios diferiu da testemunha, sofrendo uma redução percentual de 20%.

A canela possui com constituinte principal o cinamaldeído, o qual pode ter sido potencializado pelo uso do álcool como solvente extrator, interferindo consideravelmente na viabilidade do fungo. A canela em experimento de laboratório mostrou atividade bactericida, fungicida, inseticida e nematicida (SOUSA *et al.*, 1991).

Resultados semelhantes foram encontrados por Araujo *et al.* (2009), quando avaliaram a atividade fungitóxica dos extratos de canela, alho, gengibre, cravo-da-índia e tomilho, sobre os fungos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti* e *Rhizopus stolonifer*, e verificaram que os extratos alcoólicos de plantas desidratadas a 10, 20 e 25%, inibiram totalmente o crescimento micelial dos fungos.

Observou-se que o extrato alcoólico de cinamomo interferiu em 61% da viabilidade do fungo, o número de UFC afetadas foram de 15%, além disso, o diâmetro foi reduzido em torno de 11%, afetando assim a produção de conídios em 39% (Tabela 10).

O louro causou redução na viabilidade em torno de 69%, também diferindo da testemunha, como todos os extratos aqui citados, mas sua redução percentual na produção de conídios não foi tão drástica, comparando-se aos outros extratos (tabela 10).

O extrato de nim afetou 53% a germinação do fungo, já a produção foi afetada em torno de 37%.

Hirose *et al.* (2001) avaliaram o efeito do óleo de nim (2%) sobre *M. anisopliae*, e determinaram menor diâmetro das colônias e inibição da conidiogênese e da germinação dos conídios.

Dentre os extratos utilizados, aquoso e alcoólico, fica evidenciada a maior alteração dos parâmetros biológicos causada pelos extratos alcoólicos, onde observa-se maior redução na viabilidade do fungo, sendo mais de 53%, talvez pelo solvente extrator arrastar mais componentes/substâncias, que o extrato aquoso.

Tabela 10. Médias ( $\pm$  EPM) da viabilidade, Unidades Formadoras de Colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), em contato com diferentes extratos alcoólicos de plantas na concentração de 10% ( $26\pm 1^\circ\text{C}$  fotofase de 12 horas).

Extratos	Viabilidade		UFC		Diâmetro		Produção de conídios	
	(%)	Variação percentual	Média UFC	Variação percentual	( $\text{cm}^2$ )	Variação percentual	( $\times 10^6$ )	Variação percentual
Testemunha	$89,4 \pm 1,33$ a	0	$61,8 \pm 5,59$ a	0	$2,8 \pm 0,02$ a	0	$59,5 \pm 1,18$ a	0
Alecrim	$27,2 \pm 2,47$ c	-69,60	$50,6 \pm 3,82$ a	-18,12	$2,9 \pm 0,04$ a	1,46	$43,5 \pm 3,60$ b	-26,85
Capim cidreira	$21,8 \pm 7,49$ c	-75,67	$44,4 \pm 3,75$ a	-28,16	$2,8 \pm 0,08$ a	-0,70	$54,2 \pm 2,61$ a	-8,92
Citronela	$22,4 \pm 3,91$ c	-75,02	$41,8 \pm 2,96$ a	-32,36	$3,0 \pm 0,23$ a	5,35	$67,1 \pm 6,91$ a	12,79
Louro	$27,6 \pm 4,22$ c	-69,14	$55,8 \pm 9,14$ a	-9,71	$2,9 \pm 0,02$ a	1,25	$46,2 \pm 5,95$ b	-18,44
Nim	$41,9 \pm 6,15$ b	-53,18	$57,8 \pm 7,19$ a	-6,47	$2,7 \pm 0,07$ b	-5,70	$37,1 \pm 5,24$ b	-37,69
Mamona	$27,0 \pm 5,18$ c	-69,89	$47,8 \pm 4,03$ a	-22,65	$2,7 \pm 0,05$ b	-4,80	$42,3 \pm 2,80$ b	-28,87
Cinamomo	$34,6 \pm 6,46$ b	-61,33	$52,4 \pm 3,33$ a	-15,21	$2,5 \pm 0,02$ b	-10,92	$36,3 \pm 2,48$ b	-38,99
Eucalipto	$25,0 \pm 5,58$ c	-72,13	$47,6 \pm 2,60$ a	-22,98	$2,8 \pm 0,02$ a	0,28	$52,9 \pm 3,02$ a	-11,10
Arruda	$20,8 \pm 4,54$ c	-76,73	$44,0 \pm 1,82$ a	-28,80	$2,6 \pm 0,04$ b	-9,25	$38,4 \pm 6,48$ b	-35,35
Cúrcuma	$13,7 \pm 2,66$ c	-84,67	$51,6 \pm 5,66$ a	-16,50	$2,8 \pm 0,03$ a	-0,07	$59,1 \pm 5,17$ a	-0,73
Canela	$23,4 \pm 3,73$ c	-73,91	$42,6 \pm 4,76$ a	-31,07	$2,8 \pm 0,06$ a	-2,71	$47,9 \pm 7,20$ b	-19,44
CV(%)	34,29		22,27		6,32		21,85	
Fator F	16,76		1,63		2,91		4,33	

Médias ( $\pm$  EPM) seguidas de mesma letra na coluna, para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de significância.

De acordo com Alves *et al.* (2007), todos os extratos vegetais alcoólicos apresentaram compatibilidade com *M. anisopliae* (Tabela 11).

Tabela 11. Valores de toxicidade (IB) e classificação dos extratos vegetais alcoólicos quanto à compatibilidade a *Metarhizium anisopliae* (isolado Unioeste 22).

Extrato	Valor IB <sup>1</sup>	Classificação
Alecrim	82,18	Compatível
Capim Cidreira	88,27	Compatível
Citronela	100,51	Compatível
Louro	85,75	Compatível
Nim	75,80	Compatível
Mamona	78,34	Compatível
Cinamomo	71,97	Compatível
Eucalipto	88,14	Compatível
Arruda	72,78	Compatível
Cúrcuma	91,19	Compatível
Canela	82,98	Compatível

<sup>1</sup>Valores de IB, segundo Alves *et al.* (2007): entre 0 a 41 = tóxico; entre 42 e 66 = Moderadamente tóxico; maiores que 66 = compatível

Apesar dos extratos vegetais terem interferido na germinação e produção de conídios, todos os extratos apresentaram valores de toxicidade bem acima do mínimo para que possam ser considerados compatíveis.

Assim, a utilização desses extratos deve ser criteriosa, principalmente daqueles que causaram maior impacto sobre a viabilidade dos conídios, como é o caso da cúrcuma (redução de 84% na viabilidade dos conídios), pois tal como discutido para produtos comerciais, a germinação é um fator muito importante, pois a inibição desta etapa inicial afetará todo o desenvolvimento do fungo (NEVES *et al.*, 2001), visto que os conídios são os responsáveis pela ocorrência dos primeiros focos da doença (ALVES *et al.*, 2001).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos científicos utilizando produtos fitossanitários alternativos em associação com fungos entomopatogênicos ainda são escassos, portanto, torna-se difícil a comparação dos resultados aqui encontrados, demonstrando a importância de estudos similares para que aumentem os conhecimentos sobre estratégias de controle de pragas.

Nota-se que a comparação dos resultados aqui obtidos com o de outros estudos é comprometida, já que há diferenças nas metodologias utilizadas, principalmente no método de contato entre o fungo e o produto, nas concentrações e parâmetros utilizados, uma vez que a maioria dos autores acrescentou os produtos no meio de cultura.

Porém, segundo Silva *et al.* (2005) a técnica de pulverização do produto alternativo sobre o fungo é a mais adequada, pois simula o que ocorre no campo, sendo possível saber os efeitos destes produtos sobre o ecossistema.

Além disso, percebe-se a necessidade de revisão da fórmula de toxicidade, já que esta atribui somente 10% do seu valor total para a germinação dos conídios, pois este parâmetro biológico é muito importante para o desenvolvimento do fungo no inseto.

Contudo, o parâmetro UFC, sigla de "Unidade Formadora de Colônia", que representa cada propágulo viável de microrganismo capaz de gerar uma nova colônia em meio de cultura e condições apropriadas, também deveria ser incluso na fórmula, pois, mostra de fato se o produto é ou não compatível, pelo tempo em que fica na câmara climatizada, determinando assim se o fungo germina ou não, ou se a germinação é apenas retardada.

Ainda segundo Alves *et al.* (1998), estes testes em laboratório são vantajosos pois expõem ao máximo o patógeno sobre a atividade do produto, contudo é importante que essa compatibilidade também seja feita em condições de campo, para verificar a eficiência desta, mesmo que o contato entre eles sejam menor, e menos drástico serão os efeitos.

## 6. CONCLUSÃO

Os produtos defensivos agrícolas naturais apesar de causarem efeitos redução/estímulo sobre os parâmetros do fungo *M. anisopliae*, se mostraram compatíveis em todas as concentrações, exceto o produto Calda Sulfocálcica, que apresentou-se moderadamente tóxica nas CR e no 2 CR, inviabilizando os conídios.

Os extratos vegetais alcoólicos foram os que apresentaram maior redução percentual da viabilidade do fungo, entre 53 – 85 %, porém todos foram compatíveis ao fungo, assim como os extratos vegetais aquosos e o basidiocarpo de *Pycnoporus sanguineus*.

Contudo, no campo, é importante um espaço de tempo antes da aplicação dos produtos e extratos, período que compreende as primeiras 48 horas após a pulverização do fungo, tempo necessário para a germinação dos conídios e invasão do hospedeiro pelo entomopatógeno.



## 7. Referências Bibliográficas

ABREU, C. L. M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. Botucatu, 2006. 71f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

AFONSO, A. P. S.; *et al.* Avaliação da calda sulfocálcica e do óleo mineral no controle da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Hemiptera: Coccidae) na cultura da videira. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.2, p.167-169, 2007.

AGNOLIN, C. A. **Óleo de citronela no controle de ectoparasitas de bovinos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

ALBUQUERQUE, A. C. de *et al.* Compatibilidade De *Metarhizium Anisopliae* Var. *Anisopliae* Isolado Do Cupim *Nasutitermes* Sp. Com Fipronil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.71, (supl.), p.1-749, 2004.

ALMEIDA, José Eduardo Marcondes *et al.* Controle de cupins *Heterotermes tenuis* (Hagen) usando iscas termitrap como inseticidas associados com fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. **Anais da sociedade Entomológica do Brasil**. v. 27, n.4. p.639-644, 1998.

ALMEIDA, R. B. de A. *et al.* Atividade microbiana de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf sobre *Cândida spp.* **Revista de Odontologia** da UNESP. 2008; 37(2): 147-153.

ALMEIDA, M. N. Eficiência de um inseticida botânico no controle de ninfas de *Euphalerus clitoriae* (Hemiptera: Psyllidae). **Revista Controle Biológico** (BE-300) On-Line. Vol.2. Janeiro de 2010. Disponível em: [http://www.ib.unicamp.br/profs/eco\\_aplicada/](http://www.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/)

ALONSO, V. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: Indugraf, 1998.

ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J. E. M. **Produtos fitossanitários e entomopatogênicos**. In: ALVES, S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos. 2. ed., Piracicaba: FEALQ, 1998, a. cap. 8, p. 217-238.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed., Piracicaba: FEALQ, 1998, b. cap. 11, p. 289-381.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed., Piracicaba: FEALQ, 1998, cap. 11, p. 289-381.

ALVES, S. B. *et al.* Eficácia de *Beauveria bassiana*, Imidacloprid e Thiacloprid no controle de *Bemisia tabaci* e na incidência do BGMV. **Manejo integrado de Plagas** (Costa Rica) n.61, p.31-36, 2001.

AMARAL, M. F. Z. J. & BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiás, v. 2, n. 2, p. 5-8, 2005.

ANDRADE *et al.* Efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Ceratocystis sp.* **Faculdade de Ciências Agrônômicas**. Botucatu SP. 2009.

ARAÚJO, R. de C. Z.; *et al.* Avaliação *in vitro* da atividade fungitóxica de extratos de condimentos na inibição de fungos isolados de pães. **Ciência e Agrotecnologia**. vol.33, no.2. Lavras, Mar./Apr. 2009.

AZEVEDO, J. L. Controle microbiano de insetos-pragas e seu melhoramento genético. In: MELO, I. S. & AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Controle Biológico**, v. 1. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, cap. 2, p. 69-96, 1998.

AZEVEDO, F. R.; *et al.* Efficiency of natural products to control *Bemissia tabaci* biotype b (Hemiptera aleyrodidae) on melon plant. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, 72(1): 73-79, 2005.

BAHIA. **Secretaria da Indústria , Comércio e Turismo. Diagnóstico e Oportunidades de Investimentos em aleloquímica na Bahia**. Salvador: SICT/SEBRAE, 143p, 1994.

BALASUBRAMANYAM, M., *et al.* Curcumin-induced inhibition of cellular reactive oxygen species generation: Novel therapeutic implications. **Journal of Biosciences** 28:715-721. 2003.

BALBI-PEÑA, M. I. *et al.* Controle de *Alternaria Solani* em tomateiro por extratos de *Cúrcuma longa* e curcumina – II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.4, p.401-404, 2006.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito de óleo de *Piper aduncum* no controle em pós colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**. V. 29, n.5, p.555-557, 2004.

BALMÉ, F. **Plantas Medicinais**. São Paulo: Hemus, 1978.

BELLON, P. P. *et al.* Ação de produtos utilizados no sistema agroecológico na oviposição do percevejo de renda (*Vatiga manihotae*) (Hemiptera: Tingidae) em mandioca. XIII Congresso Brasileiro de Mandioca. Botucatu SP. **Resumo**. 5p, 2009.

BELLON, P. P. **Controle alternativo do percevejo de renda (*Vatiga manihotae*) (DRAKE) (MEMIPTERA: TINGIDAE) na cultura da mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ)**. . Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 45p. 2010.

BENINCA, C. P.; *et al.* **Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus***. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.75, n.3, p.285-292, jul./set., 2008.

BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI, A.C.G. Efeito de extratos cítricos na indução de resistência e no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.313 (res.), 2001.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, SP, 2009.

BOLLER, T. Chemoperception of microbial signals in plant cells. **Plant Molecular Biology**, v.46, p.189-214, 1995.

BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; SCHWANESTRADA, K. R. F. Potencial das ervas medicinais capim limão (*Cymbopogon citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) no controle de fungos fitopatogênicos. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 22. Jaboticabal, 1999. **Resumos...** Jaboticabal : GPF, p. 111, 1999.

BRANCO, C. M. *et al.* Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Hortic. Bras.** 21: 549-552. 2003.

BRUN, L.A.; LE CORFT, J.; MAILLET, J. Effects of elevated soil copper on phenology, growth and reproduction of five ruderal plant species. **Environmental Pollution**, Amherst, v.122, n.2, p.361-368, 2003.

CARVALHO, S.M.; FERREIRA, D.T. Santa-Bárbara contra a vaquinha. **Ciência Hoje**, v.11, n.65, p.65-67, 1990.

CASTIGLIONI, E.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* com Nimkol-L<sup>®</sup> para el combate de *Heterotermes tenuis*. **Manejo integrado de plagas y agroecología**, Costa Rica, n. 69, p. 38-44, 2003.

CECILIO FILHO, A. B., *et al.* Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Cienc Rural** 1: 171-175, 2000.

CELOTO, MERCIA IKARUGI BOMFIM. *et al.* Atividade fungitóxica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Maringá**, v30, n.1, p. 1-5, 2008.

CHAGAS, A. H. **Controle de mofo-cinzento (*Amphobotrys ricini*) da mamoneira (*Ricinus communis* L.) Por métodos químico, biológico e com óleos essenciais**. 2008. 67f. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

COSTA, M. A. *et al.* **Plantas e saúde: guia introdutório à fitoterapia**. Brasília: Governo do Distrito Federal, 1992. p. 60-62.

COSTA, N. A. *et al.* 1986. Use of timbo urucu (*Derris urucu*) in the control of lice (*Haemonolopinus tuberculatus*) in buffalo. Belém: **EMBRAPA CPATU**, 16p. (Boletim de pesquisa e Desenvolvimento, 78) (in Portuguese).

COSTA, J. de C.B. *et al.* Indução de resistência em mudas de cacaueteiro contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. **Tropical Plant Pathology**, vol. 35, 5, 285-294, 2010.

COSTA, E. L. N. *et al.* Efeitos, aplicações, e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, Porto Alegre, v. 26, n. 2, p. 173-185, jul./dez. 2004.

COUTINHO, H. D. M. *et al.* Atividade antimicrobiana de produtos naturais. Revista Conceitos, Recife, p. 77-85, jul. 2004.

DANTAS, S. A. F. *et al.* Indutores de resistência na proteção do mamão contra pós-colheita. **Summa Phytopatologica**, 30:314-319. 2004.

DEQUECH, S. T. B. *et al.* Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**. v.39, n.2. 2009.

DEPIERI, R.A. *et al.* Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 601-606, 2005.

DIAS, F. L. **Estudo da genotoxicidade *in vivo* e *in vitro* dos cercaricidas naturais óleo de sucupira e cremantina em células de mamíferos**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, São Paulo. 105 p. 1993.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G.I. & C. OMOTO. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Lambda-Cialotrina*. **Neotrop. Entomol.** 30: 311-316. 2001.

ECOPLANET. **Planta Clean**<sup>®</sup>. Disponível em: <http://www.ecoplanet.agr.br/index.php>. Acesso em: 10 de março de 2011.

EMBRAPA AGROBIOLOGIA. **Cultivo do Café Orgânico. Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Versão Eletrônica. Janeiro de 2006. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/sistemasdeproducao/cafe/doencas.htm>

EMBRAPA. **Calda Bordalesa: Utilidades e Preparo**. Dourados MS. 2008. Disponível em: <http://www.cpa0.embrapa.br/publicacoes/online/zip/FOL200837.pdf>

EMBRAPA PANTANAL. Serie plantas medicinais, condimentares e aromáticas. **Folder**. Corumbá MT, novembro de 2007.

ESTANISLAU, A. A. *et al.* Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

FANTI, A.L.P. *et al.* Seleção de Isolados de fungos entomopatogênicos, visando o controle da broca-da-erva-mate *Hedypathes betulinus* (Klug) (Coleoptera:Cerambycidae). In: XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia, **Anais**. Natal, 2010.

FARIA, M.R. de; MAGALHÃES, B.P. **O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil**. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, Brasília, v.22, p.18-21, 2001.

FERREIRA, D. F. 2007. **Sistema Sisvar para análises estatísticas**. <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm>> Acessado em 10 de ago., 2010.

FIGUEIREDO, R. O, *et al.* Effect of growth regulators in citral content in lemongrass in different seasons. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 569, n. 22, p. 47-49. 2002.

FORMENTINI, M.A. **Efeito *in vitro* de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin**. Cascavel: Unioeste, 2008. Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel – PR, 2009.

FORMENTINI, M. A. *et al.* Comparación De Hongos Entomopatogenos Aislados De Brasil Y Argentina Para El Control De *Gyropsylla Spegazziniana*. XII Congreso Argentino de Micología: XXII Jornadas Argetinas de Micología / **Resumos...** - 1a ed. – Rosario: Asociación Argentina de Micología, 2011.Posadas, p. 67, CD-ROM.

FRANCO, D. A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós- colheita de *citrus* com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.602-606, 2000.

FREITAS, Gilberto Bernardo de. Produção orgânica de fruteiras tropicais. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.) **Manejo integrado; produção integrada; fruteiras tropicais; doenças e pragas**. Viçosa, MG, 2003. p. 61-94.

GALLO, D.; *et al.* **Entomologia Agrícola**, v. 1. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GUERRA, M. S. **Receituário caseiro: Alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e de seus Produtos**. Brasília-DF: Embrater, p.166, 1985.

GASSEN, M.H. *et al.* Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com o inseticida acefato 750 ps. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.71 (supl.), p.1-749, 2004.

GALVÃO, S. *et al.* Avaliação de eficiência de produtos alternativos para o controle do míldio e da antracnose em videira, cultivar Niágara Branca. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.19, n.4, p.91-93, 2006.

GONÇALVES, M. de M. *et al.* Efeito de diferentes caldas e biofertilizantes no controle de requeima (*Phytophthora infestans*) em batata (*Solanum tuberosum*.) sob cultivo orgânico. **Rev. Bras. Agroecologia**, v.2, n.1, fev. 2007.

HANADA, R.E. *et al.* Eficiência de desinfestantes na erradicação de conídios de *Mycosphaerella fijiensis* aderidos à superfícies de bananas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.1, p.94-96, 2004.

HERNANDEZ, C.R. & V ENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista Agricola.**, v.72, p.305-318, 1997.

HIROSE, E. *et al.* Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 44, n. 4, p. 419-423, dec. 2001.

IAPAR. Efeito do Nim (*Azadirachta indica*) sobre Oídio e Antracnose. **Circular técnica**. Instituto Agrônomo Do Paraná - Londrina-PR. 2008.

IMPROCROP BRASIL. **Agro Mós® e Agro Fos**. Disponível em: <http://www.improcrop.com/improcrop/pt/index.cfm>. Acesso em: 26 março de 2011.

ITAKO, A. T. *et al.* Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**. Brasília, v. 33, n. 3, p. 241-244, may./jun. 2008.

JARDIM DE FLORES. "**Segredos e Virtudes das Plantas Medicinais**". Fontes de pesquisa: Angelo C. Pinto - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro e livro Disponível em <http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A20canela.htm>. Acessado em: 23 de maio de 2010.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 11ª ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional; 1993.

KEINATH, A.P. Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in *Didymella bryoniae* from South Carolina and New York. **Plant Dis**. 82: 479-484, 1998.

KUHN, O. J., *et al.* Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Cúrcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 13-20, jan./mar. 2006.

LIANG, G.M. *et al.* Effects of three neem-based insecticides on diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*). **Crop Protection**. v.22, n.2, pp.333-340. 2003.

LIMA, JÉSSICA DE S. *et al.* **Ação fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. Em *Vitis Vinifera*** L. Disponível em: <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/1723/9>. Acessado em: 14 de abril de 2011.

LIMA, WALERIA GUERREIRO *et al.* **Efeito de óleos vegetais no controle de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.** 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_3/OleosVegetais/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/OleosVegetais/index.htm)>. Acesso em: 2/6/2011.

LORD, M.J. *et al.* **Ricin: structure, mode of action and some current applications.** *Faseb J.* 8: 201-208, 1994.

LOPES, P. S. N *et al.* Controle Fitossanitário Alternativo em Comunidades de Pequenos Produtores Rurais no Norte de Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária.** Belo Horizonte – Setembro de 2004.

LUITGARDS-MOURA, J. F. *et al.* Preliminary Assays Indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazônica* (Papilionaceae), Ichthyotoxic Plants Used for Fishing in Roraima, Brazil, Have an Insecticide Effect on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** vol.97, no.5. Rio de Janeiro, July 2002.

MACHADO, V. L. L. *et al.* Ação repelente das frações de óleos essenciais da folha de louro (*Laurus nobilis* L.) em ninfas e adultos de *Periplaneta americana* (L.) (*Blattaria: Blattellidae*). Sociedade Entomológica do Brasil. **Anais.** Londrina, Sociedade Entomológica do Brasil, v. 24, n. 1, 1995.

MAIRESSE, L. A. S. Moléculas inseticidas, mecanismos de ação e evolução na sua concepção. *Ciência* Livre. Disponível em: <http://ciencialivre.pro.br/media/5739fec791c2fd98ffff8421ffffd502.doc>. Acesso em 05 de março de 2011

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas: myrtales.** Santa Maria: Editora da UFSM, 1997. 304 p.

MARQUES, R. P. *et al.* 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, nov-dez, 2004.

MARTINEZ, S. S. (Ed.). **O nim *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção.** Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 142 p., 2002

MARTINEZ, S. S.. Outras Meliáceas. In: Martinez, S. S. (ed.). **O Nim *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção.** IAPAR, Londrina, Brasil, 142p. 2002a

MARTINS, G. L. M. **Manejo de pragas agrícolas com fungos entomopatogênicos.** Agronline, 2007. Disponível em: <http://www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=383&pg=1&n=2>. Acessado em: 17 de abril de 2011.

MARTINELO, L. **EFEITO IN VITRO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS ALTERNATIVOS SOBRE ESPOROS E CRISTAIS DE *Bacillus thuringiensis* var.**

**Kurstaki Berliner, 1915.** Cascavel: Unioeste, 2008. Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel – PR, 2009.

MATTIELO. **Planta Clean.** Disponível em: [http://www.mattielo.com.br/index.php?option=com\\_content&task=view&id=33&Itemid](http://www.mattielo.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=33&Itemid)  
Acessado em: 01 Fev. 2010.

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

MENEZES, E. L. A. Inseticidas Botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, 58p, 2005.

MERKO INDUSTRIA E COMERCIO LTDA. **BIOGERMEX.** Disponível em: <http://biogermex.com.br/aempresa.htm>. Acesso em 14 de novembro de 2010.

MERTZ, M. R. *et al.* Efeito de Produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria basiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **Biossay** 5:3, 2010.

MICHEREFF, F.M. *et al.* Micoínseticidas E Micoacaricidas No Brasil: Como Estamos Após Quatro Décadas? **Arquivos Instituto Biológico**. São Paulo, v.76, n.4, p.769-779, out./dez., 2009.

MILANESI, P. M. *et al.* Fungitoxic Action of Plant Extracts on the Mycelial Growth of *Colletotrichum Gloeosporioides*. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.16,n.01-13.2009.

MOINO, JR. A. *et al.* Ação tóxica de defensivos utilizados na cultura dos citros sobre fungos entomopatogênicos. p. 53. *In: Anais do Congresso de Iniciação Científica da ESALQ*, 4, Piracicaba, p. 7,1998.

MOREIRA, C.G.A *et al.* Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.4, p.332-337, 2008.

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. *et al.* Seletividade de extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* (Denmark & Muma) (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**. v. 33, n.5, pp. 613-617. 2004.

NEGOCIOS **DA TERRA** Disponível em: [http://www.negociosdaterra.com.br/ecommerce/index.php?pg=ver\\_produto&produto=INSETICI](http://www.negociosdaterra.com.br/ecommerce/index.php?pg=ver_produto&produto=INSETICI)



[DA-ORGANICO-PIRONIM&i=1740&clica=&com\\_c=2&com\\_s=0](#) Acesso em 14 de março de 2011.

NENE, Y. L.; THAPLIYAL, P. N. **Fungicides in plant disease control**. 2<sup>o</sup>ed. New Delhi: Oxford & IBH Publishing, 507p, 1979.

NEVES, P. M. O. J. *et al.* Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**. 30:263-268, 2001.

ÓLEOS ESSENCIAIS. 2009. **O que são óleos essenciais?** Disponível em: [http://oleosessenciais.org/category/padroes\\_tipos/padroes/a\\_d\\_padroes/aldeido\\_cinamico/](http://oleosessenciais.org/category/padroes_tipos/padroes/a_d_padroes/aldeido_cinamico/). Acesso em: 27 de maio de 2010.

OLIVEIRA, D.G.P. **Proposta de um protocolo para avaliação da viabilidade de conídios de fungos entomopatogenicos e determinação da proteção ao calor conferida a *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* pela formulação em óleo emulsionável**. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 2009.

OLIVEIRA, J. V. *et al.* Influência de pós vegetais na viabilidade de ovos e emergência de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão, *Phaseolus vulgaris*, armazenado. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS. **Resumos 1**. ACECI, Fortaleza/CE, 2000, p. 41.

OLIVEIRA, I. P. de. *et al.* Potenciais Da Mamona (*Ricinus Communis* L.) Na Região Centro - Oeste Brasileira. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, ISSN 1808-8597, v.1, n.2, p.104 -130, nov. 2005.

OLSNES, S.; KOZLOV, J. RICIN. **TOXICON** 39: 1723-1728, 2001.

PANSIERA, V. C *et al.* O. Efeito do extrato pirolenhoso proveniente de três espécies arbóreas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) e *Tuta absoluta* (MEYRICK). In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8. 2003, São Pedro, SP. **Resumos**. Piracicaba, SP: SEB, 2003, P. 168.

PEDROSO, D. C. Crescimento micelial de *Alternaria solani* na presença de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Vol. 4, No. 2, nov. 2009.

PENTEADO, Silvio Roberto. **Defensivos alternativos e naturais para uma agricultura saudável**. Campinas: Ed. Cati, 1999. 79p.

PENTEADO, S. R.; **Defensivos alternativos e naturais para uma agricultura saudável**. 3<sup>a</sup> edição. Campinas: Ed Cati, 2001, 95p.

PENTEADO, A. M. **Certificação Agrícola**. Piracicaba: Editora Via Orgânica, 204 p. 2007.

PEREIRA, A. J.; *et al.* **Inibição *In Vitro* Do Crescimento Micelial De *Colletotrichum Musae*, Por Óleo Essencial De *Eucalyptus Citriodora* E *Cymbopogon Citratus*.** 2009. Disponível em: [http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2009/anais/arquivos/RE\\_0801\\_0360\\_01.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/RE_0801_0360_01.pdf). Acesso em 22 de maio de 2010.

PEREIRA, M.C. *et al.* Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.4, p.731-8, 2006.

PÉRET-ALMEIDA, L. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 875-881, mai./jun. 2008.

PIRES, LAURICI M. *et al.* Seleção de Isolados de Fungos Entomopatogênicos para o Controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua Compatibilidade com Alguns Inseticidas Usados na Cultura do Tomateiro. **Neotropical Entomology** 39(6):977-984, 2010.

PORTE A, GODOY RLO. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedade antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Ceppa**. 2:193-210, 2001.

PRIMAVESI, A. M. **Manejo ecológico de pragas e doenças: técnicas alternativas para a produção agropecuária e defesa do meio ambiente.** São Paulo: Nobel, 1994.

RAJA, J; KURUCHEVE, V. Influence of plant extracts and buffalo urine on the growth and sclerotial germination of *Macrophomina phaseolina*. **Indian Phytopathology**. V. 51(1), p. 102-103; 1998.

REIGNALULT, P.; WALTERS, D. Tropical application of inducers for disease. *In*: WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. **Induced resistance for plant defense: a sustainable approach to crop protection.** Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2007. chap.10, p. 179-200.

RESENDE, M.L.V. *et al.* Produtos indutores à base de bioindutores de resistência em plantas. Revisão. **Anual de Patologia de Plantas**, Passo fundo, v.14, n.1, p.363-382, 2006.

RESENDE, M.L.V. *et al.* Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology** 51:621-628. 2002.

ROEL, A. R.; Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**. Vol. 1, N. 2, p. 43-50, Mar. 2001.

ROMAN, E.S, L. *et al.* Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida Glyphosate. **Planta Daninha**. 22: 301-306, 2004.

RODRIGUES, A. A. C. *et al.* Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em Caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, vol.31 no.5 Brasília Sept./Oct. 2006.

RODRIGUEZ, H.; VENDRAMIN, J.D. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extratos de Meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda* (J. Smith). **Manejo Integrado Plagas**. v. 48, p. 11-18, 1998.

ROHDE, C. *et al.* Seleção de Isolados de Fungos para o Controle do Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, <http://www.scielo.br/pdf/ne/>, v. 35, n. 2, p. 231-240, 2006.

RONDELLI, V. M. **Desempenho Do Fungo *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. E Do Óleo De Mamona Para O Controle De *Plutella Xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).**; Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2010.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; NETO, S. 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: avanços e desafios**. Piracicaba, FEALQ, 414p, 2008.

ROZWALKA, L. C. *et al.* Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. Artigos científicos da defesa fitossanitária. **Ciencia Rural**, vol.38 no.2 Santa Maria Mar./Apr. 2008.

SAITO, M.L.; LUCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, 1998. 46 p.

SALVADORI, R.K. *et al.* Atividade antifúngica dos extratos brutos de *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Ruta graveolens* e *Curcuma longa*. **Fitopatol. Bras.**, Brasília, v. 28, supl., p. 360-361, 2003.

SANTOS, J.H.R. dos. *et al.* Controle alternativo de pragas e doenças. **Fortaleza: UFC**, 1998. 216p.

SANTOS, P. M. *et al.* Uso de formulações de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamão. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, supl., p.125.2004.

SANTIAGO, G. P. *et al.* Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. e. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 792-796, 2008.

SASSER, J.N. **Plant parasitic nematodes: the Farmers's Hidden Enemy**. Raleigh: University Graphics, 1989, 115p.

SAXENA, R.C. Inseticides from Neem. *In*: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.) **Inseticides of plantorigin**. Washington: ACS, cap.9, p.110-129. 1989.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, p. 3875-3883, 1991.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, n.30, p.129-137, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.554-556. 2003.

SIKKEMA J. *et al.* Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Revista Microbiol.** V.59:P.201-22, 1995.

SILVA, U. T. G. *et al.* Avaliação do efeito de diferentes doses de Calda Bordalesa na produtividade do Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). **IFMG**. Bambuí, MG. 2009.

SILVA, E. R. L. **Efeito De Produtos Alternativos Sobre *Bacillus Thuringiensis* Subesp. *Kurstaki* E *Trichogramma Pretiosum riley* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Londrina. Londrina. p. 118. 2010.

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

SILVA, MARIA A. L. da *et al.* Avaliação da composição química de *Cymbopogon citratus* Stapf cultivado em ambientes com diferentes níveis de poluição e a influência na composição do chá. **Maringá**, v. 32, n. 1, p. 67-72, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; *et al.* **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 4 Ed. Porto Alegre / Florianópolis. Ed. Universidade / UFRGS/ Ed. UFSC. 2002.

SINGH, R. & RAI, B. Antifungal potential of some higher plants against *Fusarium udum* causing wilt disease of *Cajanus cajan*. **Microbios** 102:165-173. 2000.

SMÂNIA, E. F. A. *et al.* Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. **Revista de Microbiologia**, v. 29, n.4. Sao Paulo, Outubro/Dezembro 1998.

SYNGENTA: BION® 500 WG. **Informativo técnico**. 2008. Disponível em: [https://www.extrapratica.com.br/BR\\_Docs/Portuguese/Instructions/12.pdf](https://www.extrapratica.com.br/BR_Docs/Portuguese/Instructions/12.pdf)

SOSA-GOMEZ, D. R.; MOSCARDI, F. Laboratory and field studies on the infection of stink bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.71, n.2, p.115-120, 1998.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M.H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, n.2, p.287-291, 2003.

SOUSA, M. P. *et al.* **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: EUFC, 1991. 416 p.

SOUZA, A. L. *et al.* **Bioatividade Do Extrato Aquoso Do Açafrão (*Curcuma longa* L.) Sobre O Crescimento Micelial De *Colletotrichum Lindemunthianum*.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. Sem Data.

SOUZA, S. M. C. *et al.* Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v.28, n.3, p.685-690, 2004.

SOUZA, A. E. F. *et al.* Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.6, p.465-471, 2007.

TECNUTRI DO BRASIL. **Extrato de Rotenona para hortas e gramados, flores e árvores frutíferas e demais plantas.** Nova Tietê, SP. 1998.

THOMAZONI, D. *et al.* Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos (*Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*) visando o controle do Bicudo-do-algodoeiro. (*Anthonomus grandis*, Boheman 1843) (Coleóptera: curculionidae). In: **V Congresso Brasileiro de Algodão, 2005**, Salvador-BA. V Congresso Brasileiro de Algodão: Algodão, uma fibra natural, 2005. v. V. p. 34-34.

TOILLIER, S. L. *et al.* Controle de cretamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* Pv. Phaseoli) e alterações bioquímicas em feijoeiro induzidas por *pycnoporus sanguineus*. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.99-110, jan./mar., 2010.

TSUCHIYA, H., *et al.* Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal Ethnopharmacol**, v.50, p. 27-34, 1996.

VEGA, F.E *et al.* *In vitro* effects of secondary plant compounds on germination of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.70, p.209-213, 1997.

VENDRAMIN, J.D.; SCAMPNI, P.J. Efeito do extrato de *Melia azederach* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. Smith) em dois genótipos de milho. **Vr. Agric**, v.72, p.159-170, 1998.

VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. (Org.) **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000. 234p. p. 113-128

VENTUROSO, L. R., *et al.* Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, jan./mar., 2011.

VENZON, M. *et al.* Potencial de defensivos alternativos para o controle do ácaro-branco em pimenta “Malagueta”. **Horticultura brasileira**, Campinas, v. 24, n. 2, abr./jun. 2006.

VIECELLI, C.A *et al.* Resistance induction in bean plants against angular leaf spot by extracts from *Pycnopus sanguineus mycelium*. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.1, p.73-80, 2010.

VIECELLI, CLAIR A. *et al.* Indução de resistência em feijoeiro por filtrado de cultura de *Pycnopus sanguineus* contra *Pseudocercospora griseola*. **Tropical Plant Pathology** 34 (2) March - April 2009.

VIECELLI, C. A. **Controle da mancha angular e análise bioquímica de resistência em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnopus sanguineus***. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Candido Rondon, p.61, 2008.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Óleo essencial de eucalipto. Universidade de São Paulo. ESALQ. **Documentos Florestais**. n.17, São Paulo, 26 p., 2003

WENZEL, I. M. *et al.* Compatibilidade de *Lecanicillium Lecanii* (Hyphomycetes), em condições de laboratório e estufa, aos agrotóxicos utilizados na cultura do crisântemo. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.2, p.157-166, abr./jun., 2008

WENZEL, I. M. **Patogenicidade de *Lecanicillium lecani* (Zimm.) Zare & Gams ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Acari: tetranychidae) e sua compatibilidade a agrotóxicos e organismos biocontroladores utilizados na cultura do crisântemo**. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2005.

YRUELA, I. **Copper in plants**. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. Viçosa, v.17, n.2, p.145-156, 2005.