

Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*

Plant extracts on *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) and *Beauveria bassiana*

Janaina Zorzetti^{1*}; Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves²; Kelly Christiane Constanski³; Patrícia Helena Santoro⁴; Inês Cristina Batista Fonseca²

Resumo

Visando alternativas ao uso de agrotóxicos no controle de *Hypothenemus hampei*, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de extratos vegetais aquosos e etanólicos de *Moringa oleifera* (moringa) e *Tephrosia purpurea* (tephrosia) (sementes, folhas e raízes) e *Melia azedarach* (cinamomo) *Nerium oleander*, (espirradeira) *Azadirachta indica* (nim) (apenas folhas), na mortalidade e repelência de *H. hampei*, e sua compatibilidade com *Beauveria bassiana*, importante inimigo natural desta praga. Para avaliar a mortalidade, ofereceram-se aos adultos, folhas de café (Coffea arabica L) tratadas por imersão em solução de endossulfan e em extratos vegetais na concentração de 10%. A repelência foi avaliada em testes com e sem chance de escolha, entre frutos de café tratados e não tratados. A compatibilidade entre os extratos e *Beauveria bassiana* (CG 452) foi analisada quantificando a germinação, unidades formadoras de colônias, crescimento vegetativo e produção/produtividade de conídios. As maiores mortalidades foram observadas quando folhas foram tratadas com o extrato etanólico das de *T. purpurea* (folhas) que não diferiu do endossulfan, e de extrato aquoso e etanólico da semente de *M. oleifera*. Em testes com chance de escolha, todos os extratos etanólicos possuíram ação repelente, sendo que a maior repelência foi causada por *M. oleifera* (raiz) e *T. purpurea* (semente). Os extratos aquosos de folhas e semente de *M. oleifera* e de folhas de *N. oleander* apresentaram a maior repelência. Nos ensaios sem chance de escolha o maior nível de repelência foi para frutos de café tratados com *A. indica* (folhas). O extrato etanólico de folhas de *M. oleifera* afetou negativamente a germinação. Estes estudos mostraram o potencial desses extratos para uso a campo como uma alternativa ao controle químico, sendo também seletivos para *B. bassiana*.

Palavras-chave: Broca do café, plantas inseticidas, endossulfan, extrato etanólico, extrato aquoso

Abstract

Looking for alternatives to pesticides for *Hypothenemus hampei* control, the objective of this study was to evaluate the potential of aqueous and ethanolic plant extracts of *Moringa oleifera* (Moringa) and *Tephrosia purpurea* (tephrosia) (seeds, leaves and roots) and *Melia azedarach* (cinnamon), *Nerium oleander* (oleander) and *Azadirachta indica* (neem) (leaves only), on mortality and repellency of *H. hampei* and its compatibility with *Beauveria bassiana*, an important natural enemy of this pest. To assess the mortality, coffee leaves (*Coffea arabica* L) were treated by immersion in a solution of endosulfan and plant extracts at a concentration of 10% and then offered to adults of *H. hampei*. The repellency was evaluated in multiple-choice tests and in no-choice tests among coffee fruit treated and untreated

¹ Engº Agrº Doutoranda em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR. E-mail: jzorzetti@hotmail.com

² Profs. Drs. do Deptº de Agronomia da UEL, Londrina, PR. E-mail: pedroneves@uel.br; inescbf@uel.br

³ Bióloga, Doutoranda em Agronomia, UEL, Londrina, PR. E-mail: kconstanski@hotmail.com

⁴ Engº Agrº Pesquisadora do Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR, Londrina, PR. E-mail: ph_santoro@yahoo.com.br

* Autor para correspondência

The compatibility between extracts and *Beauveria bassiana* (CG 452) was analyzed by quantifying germination, colony forming units, growth and yield / productivity of conidia. The highest mortalities were observed when leaves were treated with ethanolic extract of *T. purpurea* (leaves) which did not differ from endosulfan, and aqueous and ethanolic extracts from *M. oleifera* seeds. In free-choice tests, all the ethanolic extracts showed repellent action, being higher for *M. oleifera* (root) and *T. purpurea* (seed). The aqueous extracts of *M. oleifera* (leaves and seeds) and *N. oleander* (leaves) showed the highest repellency. In no-choice tests the highest repellency level was for coffee fruits treated with *A. indica* (leaves). The ethanolic extract of *M. oleifera* leaves negatively affected *B. bassiana* germination. These studies showed the potential of these plant extracts for use in the field as an alternative to chemical control, once they are also selective for *B. bassiana*.

Key words: Coffee berry borer, insecticidal plants, endosulfan, ethanolic extract, aqueous extract

Introdução

A cultura do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) apresenta grande importância econômica e social para o Brasil, que é considerado o maior exportador e segundo maior consumidor de café, liderando a produção mundial com 50,61 milhões de sacas (CONAB, 2012). Entretanto, a cafeicultura apresenta diversos problemas fitossanitários que provocam queda na produtividade e interferem na qualidade da bebida. Entre eles está um variado número de pragas que atacam a planta, sendo responsáveis por danos diretos ao fruto, ou mesmo por danos indiretos às plantas. (GALLO et al., 2002).

Um dos principais agentes limitantes da produção é a broca-do-cafeeiro, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1876) (Coleoptera: Curculionidae), que causa danos aos frutos nos diferentes estádios de maturação, como queda de frutos, perda de peso e abertura para entrada de micro-organismos, interferindo na produtividade e na qualidade do produto (REIS, 2002). Atualmente seu controle é realizado com produtos a base de endosulfan, que além de provocar o aparecimento de populações de insetos resistentes (BRUN et al., 1989; GINGERICH et al., 1996), é classificado como extremamente tóxico e altamente perigoso ao meio ambiente. Sendo assim, a **Agência** Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou, em um processo de reavaliação do ingrediente ativo, sua retirada do mercado brasileiro no prazo de quatro anos, contados a partir 31 de julho de 2010 (ANVISA, 2010).

Por estas razões, o controle alternativo da broca é uma necessidade imediata. O uso de espécies vegetais como inseticidas botânicos apresenta-se como uma alternativa promissora, visto que as plantas produzem vários metabólitos que podem ser prejudiciais aos insetos podendo provocar: mortalidade, repelência, inibição de oviposição e alimentação, alterações no sistema hormonal que promovem distúrbios no desenvolvimento, deformações e infertilidade (SAITO, 2004). Vale ainda ressaltar que os extratos vegetais possuem a vantagem de ter uma rápida degradação no meio ambiente, baixo impacto sobre organismos benéficos e geralmente baixa toxicidade a mamíferos (WIESBROOK, 2004).

Algumas espécies vegetais podem ser testadas no controle da broca-do-cafeeiro, entre elas estão as da família Meliaceae que tem se destacado pelo número de espécies com ação inseticida, sendo que um dos compostos mais promissores é a azadiractina (VALLADARES; DEFAGO; PALACIOS, 1997). Dentre as espécies, a *Azadirachta indica* (A. Juss, 1830), conhecida como nim, já foi relatada como causadora de diversos efeitos danosos aos insetos, como alterações na oviposição, alimentação e metamorfose (SCHMUTTERER, 1990). Seu efeito foi observado no controle de *H. hampei*, onde houve redução do número de frutos de café brocados e aumento da mortalidade de adultos dentro dos frutos (SPONAGEL, 1994). Outra espécie também pertencente família Meliaceae é *Melia azedarach* L., popularmente chamada de cinamomo, e muito eficiente no controle de insetos-praga. Seus efeitos

já foram observados sobre *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) variando de acordo com a parte vegetal utilizada (VENTURA; ITO, 2000).

Estudos realizados com *Moringa oleifera* Lam., conhecida como moringa, e pertencente a família Moringaceae mostraram o potencial dessa planta no controle de insetos. O extrato aquoso de sementes apresentou ação larvicida contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) sendo capaz de causar 100 % de mortalidade após 24 h de exposição (FERREIRA et al., 2009). Dentre os compostos responsáveis por essa ação, está a lectina, um tipo de proteína encontrada nas sementes dessa planta, que impede o processo de digestão e absorção de nutrientes nos insetos, causando morte por desnutrição (FRANCO-FRAGUAS et al., 2003; SANTOS et al., 2006).

Outra espécie que tem se destacado é a *Tephrosia purpurea* (Linn.) Pers. (Fabaceae), que contém princípios ativos como os rotenóides, que podem agir como inibidores da respiração celular, causar rápida parada de alimentação, perda das funções locomotoras, paralisia e morte (MENEZES, 2005). Além desses efeitos, um estudo observou que sementes de trigo tratadas com pó de folhas de *T. purpurea* causou repelência a *Tribolium castaneum* (Herbst 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (PUGAZHVENDAN et al., 2009).

Algumas plantas ornamentais também podem ser consideradas tóxicas a humanos e a insetos, como ocorre com *Nerium oleander* L., conhecida como espiroleira, pertencente à família Apocynaceae, e que contém em suas folhas glicosídeos cardiotoxícos denominados oleandrina e neriantina (BARG, 2004). Extratos etanólicos preparados com folhas dessa espécie foram capazes de reduzir o tempo de sobrevivência de larvas de *Muscina stabulans* (Fallén) (Diptera: Muscidae), suprimir a oviposição e reduzir a longevidade de adultos (EL-SHAZLY; NASSAR; EL-SHERIEF, 1996).

Em meio às alternativas para o controle da broca-do-cafeeiro, umas das mais estudadas é o fungo

entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Vuillemin 1912) (Hypocreales: Cordycipitaceae), que ocorre naturalmente controlando populações desse inseto (NEVES; HIROSE, 2005). Essa espécie já foi observada em muitos países atacando *H. hampei* (MURPHY; MOORE, 1990), e também pode ser associada a outros métodos de controle, como os extratos vegetais, a fim de potencializar o controle, mas para tanto, é necessário que esses sejam seletivos ao fungo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em laboratório, o efeito de *A. indica*, *M. azedarach*, *M. oleifera*, *T. purpurea* e *N. oleander* no controle e repelência da broca-do-cafeeiro, e os efeitos desses extratos sobre o desenvolvimento *in vitro* de *B. bassiana*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em condições de laboratório, empregando-se adultos de *H. hampei* obtidos da criação do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), onde os insetos foram mantidos em dieta artificial, por aproximadamente quatro meses em câmara climatizada ($25^{\circ}\text{C} \pm 1$ e fotofase de 12 h).

Coleta e preparo dos extratos vegetais

As espécies vegetais foram coletadas no IAPAR – Estação Experimental de Londrina em julho de 2010, identificadas pela Dra. Ana Odete S. Vieira e incorporadas ao acervo do Herbário da Universidade Estadual de Londrina (F.U.E.L) (Tabela 1).

O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 35°C até peso constante. Em seguida, as partes secas foram trituradas em liquidificador (Mallory 60Hz 400W) até a trituração total. Esse pó vegetal foi misturado ao etanol e a água, ambos na concentração de 10% (p/v), permanecendo em repouso por 24 horas ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, no escuro) para a obtenção dos extratos. Após esse período, procedeu-se a filtragem utilizando papel

filtro, e os sobrenadantes foram utilizados como extratos aquosos e etanólicos. O extrato etanólico

obtido foi diluído em água destilada na concentração de 10 % (v/v).

Tabela 1. Espécies vegetais, parte vegetal, estágio fenológico e número de exsicata das plantas utilizadas para produção dos extratos etanólicos e aquosos.

Espécie vegetal	Parte vegetal coletada	Estádio fenológico	Número da Exsicata
<i>Azadirachta indica</i>	folha	terço médio de plantas adultas	48848
<i>Melia azedarach</i>	folha	terço médio de plantas adultas	48845
<i>Moringa oleifera</i>	folha, semente, raiz	terço médio de plantas adultas e mudas com 90 dias	48847
<i>Tephrosia purpurea</i>	folha, semente, raiz	terço médio de plantas adultas e mudas com 90 dias	48846
<i>Nerium oleander</i>	folha	terço médio de plantas adultas	48844

Fonte: Elaboração dos autores.

Mortalidade de H. hampei em folhas de café tratado com extratos vegetais antes da secagem da calda na superfície foliar

Folhas de café (*Coffea arabica*) coletadas no terço médio de plantas adultas, na parte central dos ramos, foram transportadas até o laboratório, previamente desinfetadas em solução de hipoclorito a 1 %, e imersas por 20 segundos em recipientes contendo 100 ml de extratos vegetais etanólicos e aquosos (10 %) separadamente. Em seguida as folhas foram colocadas ainda úmidas, em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm altura) contendo uma tira ($\pm 0,5\text{cm} \times 6,0\text{cm}$) de papel filtro para absorver o excesso de extrato. Foram liberados dez insetos adultos no interior dos tubos, que em seguida foram vedados com filme de PVC, onde permaneceram em contato com as folhas tratadas. Após oito dias em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h), foi avaliada a mortalidade. Os ensaios constaram de nove extratos etanólicos (sementes, folhas e raízes de *M. oleifera* e *T. purpurea*, e apenas folhas de *M. azedarach*, *N. oleander* e *A. indica*) oito aquosos (sementes, folhas e raízes de *M. oleifera*, sementes e folhas de *T. purpurea*, e apenas folhas de *M. azedarach*, *N. oleander* e *A. indica*) e um tratamento com inseticida sintético (endosulfan-300 ml do produto comercial/100 L – dose recomendada a campo) (AGROFIT, 2012). O delineamento

experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2×9) + 1 (solvente \times espécies vegetais) + testemunha. Para as testemunhas as folhas foram imersas em água destilada esterilizada ou etanol. A parcela experimental foi constituída por dez insetos, com cinco repetições por tratamento.

Mortalidade de H. hampei em folhas de café tratado com extratos vegetais após a secagem da calda na superfície foliar

Após as avaliações realizadas no item anterior, os extratos que proporcionaram mortalidade superior a 40% foram testados seguindo a mesma metodologia. No entanto, para avaliar se a mortalidade ocorria apenas pelo contato direto entre o inseto e os extratos, ou também com o contato entre os insetos e as folhas após a evaporação dos extratos, as folhas de café, após tratadas, foram mantidas sobre papel toalha em condição ambiente, até que a superfície dessas estivesse totalmente seca para então serem acomodadas nos tubos juntamente com os insetos. Após oito dias em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h), foi avaliada a mortalidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2×5) + 1 (solvente \times espécies vegetais) + testemunha aquosa ou etanólica, sendo cinco repetições de dez insetos.

Foram empregadas cinco repetições por tratamento e a parcela experimental foi constituída por dez insetos.

Teste de preferência com chance de escolha

A arena experimental foi formada por uma caixa de poliestireno cristal tipo Gerbox® (11 x 11 x 3,5 cm), contendo três placas de Petri (4,5 cm de diâmetro) arranjadas de forma equidistante. Em uma das placas foram colocados dez frutos de café cereja (IAPAR 59), os quais foram imersos por 30 segundos nos extratos vegetais. Na placa ao lado, dez frutos previamente mergulhados apenas em água destilada ou em etanol, e na terceira placa, foram liberados dez brocas adultas. A avaliação foi realizada após quatro dias em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h), quantificando o número de brocas que penetraram nos grãos tratados e não tratados, bem como aquelas que não penetraram nos frutos. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições e a parcela experimental constituída por dez insetos.

Teste de preferência sem chance de escolha

A arena foi constituída de duas placas de Petri, arranjadas em caixas Gerbox® (11 x 11 x 3,5 cm). Em uma das placas foram liberadas 10 brocas adultas, e na outra, 10 grãos de café cereja (IAPAR 59) previamente mergulhados nos extratos aquosos e etanólicos por 30 segundos. Os insetos foram mantidos em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h) e após quatro dias, foram realizadas as avaliações, onde o parâmetro avaliado foi o número de insetos que penetraram nos frutos tratados ou que permaneceram fora deles. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial $(2 \times 9) + 1$ (solvente \times espécies vegetais) + testemunha aquosa ou etanólica, com quatro repetições, e a parcela experimental constituída por dez insetos.

Efeito in vitro dos extratos a B. bassiana

Avaliou-se *in vitro* a compatibilidade entre os extratos que causaram mortalidade para adultos de *H. hampei* superior a 40% e o isolado CG 425 de *B. bassiana* que foi pré-selecionado para o controle da broca-do-cafeeiro (NEVES; HIROSE, 2005). As variáveis analisadas foram: germinação dos conídios, unidades formadoras de colônias (UFC), crescimento vegetativo (CV) e produção/produktividade de conídios. Em placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo meio para produção de esporos (ME) (ALVES et al., 1998), foram aplicados 0,1 mL de cada extrato vegetal, separadamente. Em seguida, para a realização dos testes de germinação, em cada placa de Petri foi inoculada 0,1 ml da suspensão de conídios de *B. bassiana* (1×10^7 conídios mL^{-1}). Após 20 horas de incubação a 25°C foram quantificados os conídios germinados e não germinados através da observação em microscópio óptico (40X). Foram considerados como germinados os que apresentavam o tubo germinativo com comprimento igual ou superior ao conídio. Para determinar as UFC, foram aplicados 0,1 mL da suspensão de conídios (1×10^3 conídios mL^{-1}) sobre o meio tratado com os extratos e quatro dias após a inoculação foram quantificadas as colônias formadas. Foram realizadas seis repetições por tratamento.

Para crescimento vegetativo, produção e produtividade de *B. bassiana*, os conídios foram inoculados na superfície do meio tratado em um único ponto central. Após 15 dias, o crescimento vegetativo foi obtido pelo diâmetro médio das colônias, a partir de medições perpendiculares. Para a produção de conídios, as colônias foram recortadas juntamente com o meio, suspensas em 20 mL de solução aquosa de Tween 20 a 0,005% (v/v), e submetidas à agitação em Vórtex durante um minuto. Em seguida, o número de conídios foi quantificado em câmara de Neubauer, obtendo-se a produção total e a produtividade, que foi estimada levando em consideração a divisão da produção de conídios pela área da colônia. Para essas variáveis

foram realizadas quatro repetições. Na testemunha, as placas foram tratadas apenas com solução etanólica ou aquosa de Tween 20 a 0,005% (v/v) substituindo os extratos.

Análise estatística

Os dados dos tratamentos em esquema fatorial foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para verificar a diferença entre a mortalidade causada pelo tratamento químico com a mortalidade causada pelos extratos vegetais, a comparação entre as médias do fatorial com o tratamento químico endossulfan foi realizada pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Para a análise no teste de preferência com chance de escolha se utilizou o Teste de Goodman para contrastes entre e dentro de proporções multinomiais ($p < 0,05$) (GOODMAN, 1964; 1965).

O índice de repelência (RI) foi calculado com a fórmula $RI = (C - T) / (C + T) \times 100$, onde (C) é o número de insetos que penetraram nos grãos não tratados e (T) o número de insetos que penetraram nos frutos tratados (VILLALOBOS; ROBLEDO, 1998).

Resultados e Discussão

Mortalidade de H. hampei em folhas de caféiro tratadas com extratos vegetais antes da secagem da calda na superfície foliar

Os maiores índices de mortalidade foram constatados nos tratamentos com extrato etanólico das sementes de *M. oleifera* ($62,00 \% \pm 2,00$) e folhas de *T. purpurea* ($96,00 \% \pm 4,00$), sendo esse último o único que não diferiu do tratamento químico com endossulfan ($100,00 \% \pm 0,00$) (Tabela 2).

Tabela 2. (%) Mortalidade (\pm erro padrão) de *Hypothenemus hampei* (n=50) no oitavo dia após contato com folhas de caféiro tratadas com extratos vegetais etanólicos e aquosos (antes da secagem da calda na superfície foliar).

Espécie Vegetal	Parte Utilizada	Extrato Etanólico ⁽¹⁾		Extrato Aquoso ⁽¹⁾	
<i>Moringa oleifera</i>	Folha	48,00 \pm 8,60	BCa	24,00 \pm 5,10	ABb
<i>Moringa oleifera</i>	Semente	62,00 \pm 2,00	ABa	56,00 \pm 15,03	Aa
<i>Moringa oleifera</i>	Raiz	8,00 \pm 3,74	DEa	6,00 \pm 6,00	Ba
<i>Tephrosia purpurea</i>	Folha	96,00 \pm 4,00	Aa*	4,00 \pm 4,00	Bb
<i>Tephrosia purpurea</i>	Semente	12,00 \pm 3,74	CDEa	12,00 \pm 4,90	Ba
<i>Tephrosia purpurea</i>	Raiz	36,00 \pm 4,00	BCDE	-	
<i>Azadirachta indica</i>	Folha	44,00 \pm 14,70	BCDa	12,00 \pm 5,83	Bb
<i>Melia azedarach</i>	Folha	0,00 \pm 0,00	Eb	28,00 \pm 9,17	ABa
<i>Nerium oleander</i>	Folha	34,00 \pm 16,91	BCDEa	12,00 \pm 8,00	Ba
Testemunha		0,00 \pm 0,00	Ea	6,00 \pm 4,00	Ba
Endossulfan		100,00 \pm 0,00			

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (CV=68,14%) e seguidas de * não diferem do tratamento químico endossulfan pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade (CV=56,91%).

Fonte: Elaboração dos autores.

Espécies do gênero *Tephrosia* produzem substâncias com grande diversidade estrutural, incluindo os rotenóides, importantes isoflavonóides que manifestam propriedades inseticidas através da imediata interrupção da alimentação, perda das

funções locomotoras, paralisia e morte (VEITCH, 2007). Dentre os rotenóides, destaca-se a rotenona, que é encontrada em maiores concentrações nas raízes, mas pode também estar presente nas folhas, ramos e sementes (MARICONI, 1981).

Esse composto é muito utilizado no controle do besouro do Colorado, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), uma importante praga da batata no hemisfério norte (COSTA; BELO; BARBOSA, 1997).

Os diferentes tipos de solventes também podem causar alterações na atividade inseticida, como também foi verificado por Costa (1996), onde se constatou que extratos da raiz de timbó (*Derris elliptica* Benth) formulados com álcool etílico absoluto foram mais eficientes contra larvas de 4º instar de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Jaglan et al. (1997) também verificaram em seu estudo diferenças entre os solventes utilizados, onde extratos de sementes e folhas de *A. indica*, extraídos em clorofórmio/metanol, testados em *Helicoverpa armigera* (Hübner), apresentaram melhores resultados quando comparados aos extratos obtidos apenas com metanol. A menor atividade inseticida relacionada ao metanol pode estar relacionada à sua alta polaridade, onde uma maior quantidade de substâncias inativas, como açúcares e taninos, poderiam ter sido extraídas, e, portanto, causado uma diluição das substâncias ativas do extrato. Já o extrato de clorofórmio/ metanol, apresentando uma menor polaridade devido a maior concentração de clorofórmio, teria extraído uma menor quantidade de substâncias inativas.

As partes vegetais utilizadas nas formulações dos extratos também podem ser consideradas importantes, pois os compostos inseticidas das plantas não estão distribuídos uniformemente, o que pode ser a causa da variação na mortalidade dos insetos (SOUZA; VENDRAMIM, 2001). Esse fato foi verificado no presente estudo, onde os extratos de *M. oleifera* e *T. purpurea* apresentaram diferentes níveis de mortalidade conforme a parte vegetal utilizada (Tabela 2).

Os únicos extratos que se mostraram eficientes em ambos os solventes foram os de folhas e sementes de *M. oleifera*. A ação inseticida dessa

espécie pode estar relacionada à presença de lectinas, classe de proteínas hemaglutinantes ou glicoproteínas de origem não imunológica que podem aglutinar células animais e/ou vegetais (CORREIA; COELHO; PAIVA, 2008). Estas proteínas são consideradas metabólitos importantes e podem atuar no mecanismo de defesa contra insetos e patógenos, causando efeitos degenerativos nas membranas celulares, e inibindo várias enzimas intestinais (RAMESHWARAM; NADIMPALLI, 2008).

Em um estudo realizado com lectinas purificadas de sementes de *Canavalia brasiliensis* Mart. Ex Benth (Fabaceae) e *Cratylia floribunda* Benth (Fabaceae) sobre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) foram constatados efeitos deletérios sobre o desenvolvimento desse inseto (FREITAS et al., 2011).

Mortalidade de H. hampei em folhas de café tratado com extratos vegetais após a secagem da calda na superfície foliar

Não foi possível observar diferença na mortalidade das brocas, antes e após a evaporação da calda da superfície foliar, mostrando que a ação inseticida dos extratos pode ocorrer no contato com as folhas úmidas e com as folhas secas. Este aspecto é particularmente importante no caso da broca do café, pois o inseto passa a maior parte do tempo no interior dos frutos saindo dos mesmos para acasalar e fazer postura, e assim, ao caminhar pelas folhas e frutos, poderá sofrer o efeito inseticida dos extratos sem que haja o contato direto com o produto recém-aplicado.

Considerando-se a média de mortalidade provocada pelos tratamentos, todos os extratos promoveram percentuais de mortalidade superiores à testemunha. O extrato etanólico da folha de *T. purpurea*, tanto antes como após a secagem das caldas, manteve seu potencial inseticida (96 e 98 % de mortalidade respectivamente) (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade (%) (\pm erro padrão) de *Hypothenemus hampei* (n=50) no oitavo dia de contato com folhas de cafeeiro tratadas com extratos vegetais etanólicos e aquosos (antes e após a secagem da calda na superfície foliar).

Espécie Vegetal/ Extrato	P a r t e		Antes-secagem	Pós-secagem	Media ⁽¹⁾	
	Utilizada					
<i>Moringa oleifera</i> /etanólico	Folha		48,00 \pm 8,60	62,00 \pm 8,19	55,00	B
<i>Moringa oleifera</i> /etanólico	Semente		62,00 \pm 2,00	32,00 \pm 8,19	47,00	B
<i>Moringa oleifera</i> /aquoso	Semente		56,00 \pm 15,03	54,00 \pm 7,94	55,00	B
<i>Tephrosia purpurea</i> /etanólico	Folha		96,00 \pm 4,00*	98,00 \pm 1,42*	97,00	A
<i>Azadirachta indica</i> /etanólico	Folha		44,00 \pm 14,70	40,00 \pm 7,42	42,00	B
Testemunha /etanólico	-		0,00 \pm 0,00	6,00 \pm 2,83	3,00	C
Testemunha / aquoso	-		6,00 \pm 4,00	10,00 \pm 3,16	8,00	C
Média ⁽¹⁾	-		44,57 a	43,14 a		
Endossulfan/aquoso			100,00 \pm 0,00			

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (CV=45,11%) e seguidas de * não diferem do tratamento químico endossulfan pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade (CV=40,15%).

Fonte: Elaboração dos autores.

A ação inseticida causada apenas pelo contato entre os insetos e uma superfície tratada com os extratos também foi verificada por Fazolin et al. (2005), que testaram óleo de *Piper aduncum* L. sobre adultos de *Cerotoma tingomarianus* (Coleoptera: Chrysomelidae) em diferentes concentrações e apontaram que a aplicação em superfície contaminada (papel filtro) apresentou mortalidade superior em relação à aplicação tópica.

Teste de preferência com chance de escolha

Para os extratos etanólicos, a maior porcentagem de adultos que permaneceu externamente aos frutos foi observada para os tratamentos *A. indica* (folha- 70,00 %) e *T. purpurea* (raiz- 67,50 %). Entre os frutos tratados e não tratados, a preferência das brocas foi pelos não tratados, exceto para os tratamentos *M. oleifera* (folha e semente), onde não se observou diferença (Tabela 4). Já para os extratos aquosos, a maior porcentagem de brocas que não penetrou nos frutos ocorreu para o tratamento *N. oleander* (folha- 80,00 %), *M. azadarach* (folha- 70,00%) e *T. purpurea* (semente- 67,50 %). A preferência entre os frutos foi maior para os não tratados, exceto para os tratamentos *T. purpurea* (folha e semente) e *M.*

azadarach (folha), onde não se observou diferença entre tratados e não tratados (Tabela 5). O fato dos insetos não penetrarem em nenhum fruto pode estar relacionado com a presença de compostos voláteis liberados por esses extratos, o que pode ter causando confusão nas brocas e impedido a localização dos frutos não tratados.

O comportamento de repelência dos insetos aos frutos tratados com extratos etanólicos e aquosos pode ser comprovada pelo Índice de Repelência (VILLALOBOS; ROBLEDO, 1998), onde são consideradas repelentes substâncias cujo índice está acima de 50. Verificou-se que todos os extratos etanólicos possuem ação repelente, sendo os maiores índices encontrados para os extratos oriundos de *M. oleifera* (raiz) e *T. purpurea* (semente), os quais foram encontrados índices de repelência de 85 e 80 respectivamente (Tabela 4). Para os extratos aquosos, *M. oleifera* (folha e semente) e *N. oleander* (folha) apresentaram índice de repelência igual a 100. Assim, estes extratos têm um elevado potencial para serem utilizados pelos produtores no manejo de populações de *H. hampei*. Apenas os extratos de *T. purpurea* (folha) e *M. azedarach* (folha) não apresentaram efeito repelente (Tabela 5).

Tabela 4. Índice de repelência e preferência de *Hypothenemus hampei* (n=40) por frutos de cafeeiro tratados e não tratados com extratos vegetais etanólicos, ou permaneceram fora dos frutos, em teste com chance de escolha após quatro dias em contato com os frutos.

Espécie Vegetal	Parte Utilizada	Preferência ⁽¹⁾						R.I. ⁽²⁾
		Externo ^(a)		Tratado		Não Tratado		
<i>Moringa oleifera</i>	Folha	60,00	Ba	10,00	Ab	30,00	ABab	50,00
<i>Moringa oleifera</i>	Semente	60,00	Ba	10,00	Ab	30,00	ABab	50,00
<i>Moringa oleifera</i>	Raiz	32,50	Ba	5,00	Ab	62,50	Aa	85,00
<i>Tephrosia purpurea</i>	Folha	45,00	Ba	7,50	Ab	47,50	ABa	73,00
<i>Tephrosia purpurea</i>	Semente	50,00	Ba	5,00	Ab	45,00	ABa	80,00
<i>Tephrosia purpurea</i>	Raiz	67,50	ABa	5,00	Ac	27,50	ABb	69,00
<i>Azadirachta indica</i>	Folha	70,00	Aa	5,00	Ac	25,00	Bb	67,00
<i>Melia azedarach</i>	Folha	62,50	Ba	5,00	Ab	32,50	ABa	73,00
<i>Nerium oleander</i>	Folha	35,00	Bab	15,00	Ab	50,00	ABa	54,00

⁽¹⁾ Porcentagens seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem significativamente entre as proporções pelo teste de proporção de Goodman para contrastes dentro e entre multinomiais (p<0,05)

⁽²⁾ R.I, Índice de Repelência

^(a) porcentagem de insetos que permaneceram no local de origem e não penetraram nos frutos

Fonte: Elaboração dos autores.

Tabela 5. Índice de repelência e preferência de *Hypothenemus hampei* (n=40) aos frutos de café tratados e não tratados com extratos vegetais aquosos, ou permaneceram fora dos frutos, em teste com chance de escolha após quatro dias em contato com os frutos.

Espécie Vegetal	Parte Utilizada	Preferência ⁽¹⁾						R.I. ⁽²⁾
		Externo		Tratado		Não Tratado		
<i>Moringa oleifera</i>	Folha	32,50	Ca	0,00	Bb	67,50	Aa	100,00
<i>Moringa oleifera</i>	Semente	55,00	ABCa	0,00	Bb	45,00	ABa	100,00
<i>Moringa oleifera</i>	Raiz	40,00	BCa	7,50	ABb	52,50	ABa	75,00
<i>Tephrosia purpurea</i>	Folha	50,00	ABCa	22,50	Aa	27,50	Ba	10,00
<i>Tephrosia purpurea</i>	Semente	67,50	ABCa	2,50	Abc	30,00	Bb	85,00
<i>Azadirachta indica</i>	Folha	47,50	ABCa	5,00	ABb	47,50	ABa	81,00
<i>Melia azedarach</i>	Folha	70,00	ABa	10,00	ABb	20,00	Bb	33,00
<i>Nerium oleander</i>	Folha	80,00	Aa	0,00	Bc	20,00	Bb	100,00

⁽¹⁾ Porcentagens seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem significativamente entre as proporções pelo teste de proporção de Goodman para contrastes dentro e entre multinomiais (p<0,05)

⁽²⁾ R.I, Índice de Repelência

Fonte: Elaboração dos autores.

Teste de preferência sem chance de escolha

Os extratos de *A. indica* (folhas) foram responsáveis pela menor porcentagem (31,25 %) de insetos internos aos frutos, contrastando com *T.*

purpurea (raiz) onde 70 % das brocas permaneceram dentro dos frutos. Ambos os tratamentos diferiram da testemunha, onde se observou 83,75 % dos insetos no interior dos frutos. Não houve diferença entre extrato etanólico e aquoso. (Tabela 6).

Tabela 6. Porcentagem (\pm erro padrão) de *Hypothenemus hampei* (n=40) internas aos frutos de café tratados com extratos vegetais etanólicos e aquosos em teste sem chance de escolha após quatro dias em contato com os frutos.

Espécie Vegetal	Parte Utilizada	Insetos internos ao grão tratado (%)		
		Extrato Etanólico	Extrato Aquoso	Média ⁽¹⁾
<i>Moringa oleifera</i>	Folha	52,50 \pm 8,54	45,00 \pm 5,00	48,75 ABC
<i>Moringa oleifera</i>	Semente	52,50 \pm 4,79	45,00 \pm 6,45	48,75 ABC
<i>Moringa oleifera</i>	Raiz	50,00 \pm 4,08	60,00 \pm 0,00	55,00 ABC
<i>Tephrosia purpurea</i>	Folha	37,50 \pm 13,15	60,00 \pm 18,26	48,75 ABC
<i>Tephrosia purpurea</i>	Semente	50,00 \pm 14,72	60,00 \pm 10,80	55,00 ABC
<i>Tephrosia purpurea</i>	Raiz	70,00 \pm 12,25	-	70,00 AB
<i>Azadirachta indica</i>	Folha	37,50 \pm 13,15	25,00 \pm 9,57	31,25 C
<i>Melia azedarach</i>	Folha	50,00 \pm 8,16	45,00 \pm 11,90	47,50 BC
<i>Nerium oleander</i>	Folha	60,00 \pm 16,33	60,00 \pm 4,08	60,00 ABC
Testemunha	-	87,50 \pm 2,50*	80,00 \pm 5,77**	83,75 A
Média ⁽¹⁾	-	54,75 a	53,33 a	

⁽¹⁾Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$) (CV=37,91%)

*Testemunha apenas com etanol

** Testemunha apenas com água

Fonte: Elaboração dos autores.

Esses resultados corroboram com estudos de Rodrigues-Lagunes et al. (1998), onde foi observada repelência de insetos adultos de *H. hampei* ao alimento tratado com óleo de nim. Além da repelência, Sponagel (1994), também observou em condições de laboratório e campo, a redução na alimentação e morte desses insetos quando submetidos ao contato com óleo de nim. Esse efeito de *A. indica* pode ser explicado por um de seus compostos, a azadiractina, que além de ser tóxica a insetos, também tem efeito de repelência (MORDUE; BLACKWELL, 1993).

Efeito *in vitro* dos extratos à *B. bassiana*

A germinação dos conídios foi menor para os extratos etanólicos provenientes de folhas e sementes de *M. oleifera*, que foi respectivamente 48,70 % \pm 4,95 e 74,53 % \pm 3,26. Já para o tratamento com extrato aquoso de semente de *M. oleifera* a germinação foi de 88,32%. Os extratos etanólicos oriundos da folha de *T. purpurea* e *A. indica* obtiveram os maiores valores de germinação, 99,45 % \pm 0,29 e 98,14 % \pm 0,46, respectivamente,

não diferindo da testemunha etanólica (99,50 % \pm 0,10) e aquosa (98,84 % \pm 0,10) (Tabela 7).

A redução na porcentagem de germinação pode indicar apenas um atraso, pois as demais variáveis de desenvolvimento, especialmente as UFC, não sofreram alterações em relação à testemunha. Esse atraso na germinação pode ser devido à ação fungistática registrada para *M. oleifera* (CHUANG et al., 2007). Entretanto, é possível que tenha ocorrido, com o passar do tempo, degradação dessas substâncias, que deixariam de inibir a germinação.

A interferência de extratos de plantas no desenvolvimento de *B. bassiana* foi verificada em trabalhos que mostraram o efeito fungitóxico de óleo de nim sobre o fungo na redução na germinação, diâmetro de colônia e conidiogênese (HIROSE; NEVES; ZEQUI, 2001). Em outro estudo, um produto à base de óleo de sementes de nim inibiu a produção de conídios de *B. bassiana* em 96,6%, porém, extratos aquosos de sementes e de folhas de nim mostraram-se compatíveis com o entomopatógeno em todas as concentrações testadas (MARQUES; MONTEIRO; PEREIRA, 2004). Os extratos de plantas devem ser seletivos

tanto aos fungos entomopatogênicos que ocorrem naturalmente, quanto aos que são introduzidos, a fim de conservar sua viabilidade para o controle de insetos (OLIVEIRA; NEVES; KAWAZOE, 2003).

Os extratos vegetais estudados mostram-se como uma opção para o manejo da broca, e associados a

outras práticas, podem contribuir para a redução de aplicações de inseticidas químicos sintéticos, que apresentam problemas aos organismos benéficos e ao meio ambiente. Entretanto, devem ser testados em condições de campo, onde os fatores ambientais podem ser limitantes para a eficiência dos extratos.

Tabela 7. Efeito de extratos vegetais etanólicos e aquosos sobre o fungo *Beauveria bassiana*, em cinco variáveis do desenvolvimento in vitro⁽¹⁾.

Espécie Vegetal/ Extrator	Parte Utilizada	Germinação	⁽²⁾ UFC	⁽³⁾ CV	Produção	Produtividade
<i>Moringa oleifera</i> / etanólico	Folha	48,70 ± 4,95 d	68,00 ± 3,31 a	27,12 ± 2,95 b	2141,25 ± 198,38 a	80,45 ± 7,11 a
<i>Moringa oleifera</i> / etanólico	Semente	74,53 ± 3,26 c	75,00 ± 5,37 a	32,66 ± 0,29 ab	2205,00 ± 361,05 a	67,76 ± 11,58 a
<i>Moringa oleifera</i> / aquoso	Semente	88,32 ± 1,03 b	72,00 ± 3,90 a	33,17 ± 0,00 ab	1567,50 ± 168,18 a	47,26 ± 5,07 a
<i>Tephrosia purpurea</i> / etanólico	Folha	99,45 ± 0,29 a	82,00 ± 8,81 a	35,27 ± 1,15 a	2197,50 ± 364,11 a	61,91 ± 9,31 a
<i>Azadirachta indica</i> / etanólico	Folha	98,14 ± 0,46 ab	83,50 ± 3,70 a	33,94 ± 0,50 ab	1916,25 ± 324,32 a	56,56 ± 9,58 a
Testemunha / etanólico	-	99,50 ± 0,10 a	77,00 ± 6,05 a	28,36 ± 1,92 ab	2080,00 ± 244,70 a	75,50 ± 13,46 a
Testemunha/ aquoso	-	98,84 ± 0,10 a	72,00 ± 4,11 a	30,10 ± 2,57 ab	1502,50 ± 216,15 a	49,13 ± 3,41 a
CV (%)		6,44	17,29	10,91	28,63	29,10

⁽¹⁾Médias (±erro-padrão) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05). ⁽²⁾UFC, unidades formadoras de colônias; ⁽³⁾CV, crescimento vegetativo; CV(%), coeficiente de variação.

Fonte: Elaboração dos autores.

Conclusões

Os extratos etanólicos *T. purpurea* (folha), etanólicos e aquosos de *M. oleifera* (semente) obtiveram maior ação letal para *H. hampei*.

Para efeito de repelência sobre a broca-do-cafeeiro apenas os extratos aquosos de *T. purpurea* (folha) e *M. azedarach* (folha) não foram eficientes.

O extrato etanólico de *T. purpurea* (folha) não afetou a germinação de *B. bassiana*, o que permite sua associação no controle de *H. hampei*.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor, pesquisadora doutora do Instituto Agrônomo do Paraná Ana Maria Meneguim por fornecer os insetos e a professora doutora da Universidade Estadual de Londrina Ana Odete S. Vieira pela identificação das espécies vegetais.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA). Brasília, Anvisa, 2010. 22 p. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wcm/comcect>>. Acesso em: 11 abr. 2012.
- AGROFIT Agrofit: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 11 abr. 2012.
- ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO JUNIOR, A.; ALVES, L. F. A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 637-712.
- BARG, D. G. *Plantas tóxicas*. 2004. Monografia (Metodologia científica- Fitoterapia) – Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D. M. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. *Journal of Economic Entomology*, Maryland, v. 82, n. 5, p. 1311-1316, 1989.
- CHUANG, P. H.; LEE, C. W.; CHOU, J. Y.; MURUGAN, M.; SHIEN, B. J.; CHEN, H. M. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Technology*, Florida, v. 98, n. 1, p. 232-236, 2007.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra Brasileira café. Safra 2011. Primeira estimativa, janeiro/2011. Brasília: Conab, 2011. 25 p. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_01_06_08_52_41_boletim_cafe_1a_estimativa_safra_2011.pdf>. Acesso em: 11 abr. 2012.
- CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G.. Lectins, carbohydrate recognition molecules: are they toxic? In: SIDDIQUE, Y. H. (Ed.). *Recent trends in toxicology*. Kerala: Transworld Research Network, 2008. v. 37, p. 47-59.
- COSTA, J. P. C. *Efeito da variabilidade de timbós de diferentes regiões da Amazônia em Musca domestica L. (DÍPTERA: Muscidae)*. 1996. Dissertação (Mestrado em em Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- COSTA, J. P. da; BELO, M.; BARBOSA, J. C. Efeito de espécies de timbó (*Derris* spp.: Fabaceae) em populações de *Musca domestica* L. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 26, n. 1, p. 163-168, 1997.
- EL-SHAZLY, M. M.; NASSAR, M. I.; EL-SHERIEF, H. A. Toxic effect of ethanolic extract of *Nerium oleander* (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of *Muscina stabulans* (Diptera-Muscidae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, Cairo, v. 26, n. 2, p. 461-473, 1996.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; LIMA, M. S.; ALECIO, M. R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyne (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 34, n. 3, p. 485-489, 2005.
- FERREIRA, P. M. P.; CARVALHO, A. F. U.; FARIAS, D. F.; CARIOLANO, N. G.; MELO, V. M. M.; QUEIROZ, M. G. R.; MARTINS, A. M. C.; MACHADO-NETO, J. G. Larvicidal activity of the water extract of *Moringa oleifera* seeds against *Aedes aegypti* and its toxicity upon laboratory animals”. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 207-216, 2009.
- FRANCO-FRAGUAS, L.; PLÁ, A.; FERREIRA, F.; MASSALDI, H.; SUÁREZ, N.; VIERA, F. B. Preparative purification of soybean agglutinin by affinity chromatography and its immobilization for polysaccharide isolation. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 790, n. 1, p. 365-72, 2003.
- FREITAS, C. D. T.; RAMOS, M. V.; SOUZA, D. P.; MARINHO, J. D. B.; TEIXEIRA, F. M.; OLIVEIRA, J. S. Correlações entre atividade inseticida e resistência a proteólise de duas lectinas vegetais glicose/manose. *Comunicata Scientiae*, Bom Jesus, v. 2, n. 1, p. 34-41, 2011.
- GALLO, D.; KANANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. *Manual de entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GINGERICH, D. P.; BORSA, P.; SUCKLING, D. M.; BRUN, L. O. Inbreeding in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) estimated from endosulfan resistance phenotype frequencies. *Bulletin of Entomological Research*, Cambridge, v. 86, n. 6, p. 667-674, 1996.
- GOODMAN, L. A. On simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial proportions. *Technometrics*, Alexandria, v. 7, n. 2, p. 247-254, 1965.
- _____. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. *Annals of Mathematical Statistics*, Ohio, v. 35, n. 2, p. 716-725, 1964.
- HIROSE, E.; NEVES, P. M. O. J.; ZEQUI, J. A. C. Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic

- fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Brazilian Archives of Biology Technology*, Curitiba, v. 44, n. 4, p. 419-423, 2001.
- JAGLAN, M. S.; KHOKHAR, K. S.; MALIK, M. S.; SINGH, R. Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) extracts against american bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 45, n. 8, p. 3262-3268, 1997.
- MARICONI, F. A. M. *Inseticidas e seu emprego no combate às pragas: com uma introdução sobre o estudo dos insetos*. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1981. 130 p.
- MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de nim (*Azadirachta indica*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1675-1680, 2004.
- MENEZES, E. L. A. *Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola*. Rio de Janeiro: Seropédica, 2005. (Embrapa, Documentos 205).
- MORDUE, A. J. M.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, Oxford, v. 39, n. 11, p. 903-924, 1993.
- MURPHY, S. T.; MOORE, D. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera, Scolytidae): previous programmes and possibilities for the future. *Biocontrol News and Information*, United Kingdom, v. 11, n. 2, p. 107-117, 1990.
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 34, n. 1, p. 77-82, 2005.
- OLIVEIRA, C. N.; NEVES, P. M. O. J.; KAWAZOE, L. S. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 663-667, 2003.
- PUGAZHVENDAN, S. R.; ELUMALAI, K.; ROSS, R. P.; SOUNDARARAJAN, M. Repellent activity of chosen plant species against *Tribolium castaneum*. *World Journal of Zoology*, Egypt, v. 4, n. 3, p. 188-190, 2009.
- RAMESHWARAM, N. R.; NADIMPALLI, S. K. An efficient method for the purification and quantification of a galactose-specific lectin from vegetative tissues of *Dolichos lablab*. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 861, n. 2, p. 209-217, 2008.
- REIS, P. R. Prejuízo certo. *Revista Cultivar*, Pelotas, v. 4, n. 38, p. 10-13, 2002.
- RODRÍGUES-LAGUNES, D. A.; LAGUNES-TEJEDA, A.; RUESTRO-DIAZ, D.; RODRÍGUES-MACIEL, C.; VELÁSQUEZ-MENDOZA, J.; BECERRIL, R. E.; PACHECO-VELASCO, E. Extractos acuosos de nim para el combate de la broca de café. *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica, v. 49, n. 2, p. 73-77, 1998.
- SAITO, M. L. *As plantas praguicidas, alternativa para o controle de pragas na agricultura*. Jaguariúna, SP: Embrapa, 2004. 3 p. (Informativo Embrapa Meio Ambiente, v. 26).
- SANTOS, B. S.; FARIAS, P. M. A.; MENEZES, F. D.; FERREIRA, R. C.; ALVES JÚNIOR, S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; BELTRÃO, E. I. C. Lectin functionalized quantum dots for recognition of mammary tumors. *Proceedings of SPIE*, San Diego, v. 6096, n. 4, p. 1J-8J, 2006.
- SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v. 35, n. 1, p. 271-297, 1990.
- SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Atividade inseticida de extratos aquosos de meliaceae sobre a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera; aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 30, n. 1, p. 133-137, 2001.
- SPONAGEL, K. W. *La broca del café. Hypotenemus hampei em plantaciones de café. Robusta en La Amazona a Ecuatoriana*. Wissenschaftlicher: Huyesen, 1994. 185 p.
- VALLADARES, G.; DEFAGO, M. T.; PALACIOS, S. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 90, n. 3, p. 747-750, 1997.
- VEITCH, N. C. Isoflavonoids of the leguminosa. *Natural Products Reports*, Lanham, v. 24, n. 8, p. 416-464, 2007.
- VENTURA, M. U.; ITO, M. Antifeedant activity of *Melia azedarach* (L.) extracts to *Diabrotica speciosa* (Genn.) (Coleoptera: Chrysomelidae) beetles. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 2, n. 43, p. 215-219, 2000.
- VILLALOBOS, M. J. P.; ROBLEDO, A. Screening for anti-insect activity in mediterranean plants. *Industrial Crops and Products*, Netherlands, v. 8, n. 3, p. 183-194, 1998.
- WIESBROOK, M. L. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? *Illinois Pesticide Review*, Urbana, v. 17, n. 3, p. 1-8, 2004.

