

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

NAIARA ALVES FELIPE

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* (BLANCO) BENTH
SOBRE A GERMINAÇÃO E UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS (UFCs)
DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium anisopliae* (METSCH)**

DOIS VIZINHOS

2022

NAIARA ALVES FELIPE

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* (BLANCO) BENTH
SOBRE A GERMINAÇÃO E UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS (UFCs)
DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium anisopliae* (METSCH)**

**EFFECT OF *Pogostemon cablin* (BLANCO) BENTH ESSENTIAL OIL
ON GERMINATION AND COLON FORMING UNITS (CFUs) OF THE
ENTOMOPATOGENIC FUNGUS *Metarhizium anisopliae* (METSCH)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel Engenharia Florestal da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Prof. Dr. Michele Potrich
Coorientador(a): Lucas Battisti

DOIS VIZINHOS

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

NAIARA ALVES FELIPE

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pogostemon cablin* (BLANCO) BENTH
SOBRE A GERMINAÇÃO E UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS (UFCs)
DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium anisopliae* (METSCH)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Florestal da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

14 de Junho de 2022

Michele Potrich
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Alfredo de Gouvea
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Bruna Polez
Engenheira Florestal
Sylvamo do Brasil LDTA.

DOIS VIZINHOS

2022

DOIS VIZINHOS
2022

Dedico esse trabalho à Deus por sempre me amparar, à minha família, amigos e as pessoas que eu amo, por sempre estarem do meu lado e me incentivarem a continuar seguindo em frente.

AGRADECIMENTOS

Me faltam palavras para descrever o quanto esperei por esse momento, durante toda minha graduação estive rodeada de pessoas incríveis, que não mediram esforços e tempo para me auxiliar e me ajudar, o que contribuiu para que eu chegasse até aqui. Por esse motivo dedico esse espaço para agradecer primeiramente a Deus, pois Ele foi minha âncora e força durante todo o período de escuridão.

Aos meu pais Rogério e Alcione eu agradeço por sempre me fazer ter um motivo para batalhar e não desistir. Agradeço as minhas irmãs Bruna e Beatriz onde incansáveis ligações me mantiveram firmes e ciente do motivo de eu estar ali e obrigada Bruna, por me inspirar a seguir seus passos. Agradeço as minhas amigas de longa data Paloma, Sthefany e Tayna que desde antes da graduação me deram força e coragem para seguir meus sonhos.

As minhas amigas de graduação Naiara, Ariane, Sandiane, Amanda e Roberta, eu agradeço por cada dia que estiveram comigo e quando juntas inúmeras vezes fomos famílias umas das outras, tenham certeza que sem vocês eu não teria conseguido chegar até aqui. Agradeço ao Diogo, a Marina e a Hellen que foram luzes nos meus dias tristes, graças à vocês, esses dias se tornaram imensamente felizes.

Aos meus professores de graduação, eu agradeço cada dia que tiraram um tempinho para me escutar, saibam que sempre foram além de professores para mim. Professora Michele, você esteve comigo desde o começo, muito do que me tornei como acadêmica foi inspirado na mulher incrível que você sempre foi, obrigada por tudo.

Agradeço a todos que entraram na minha vida no último ano e que me apoiaram e me ensinaram mais do que eu poderia imaginar. À Cibele eu agradeço por não desistir de me ajudar e por me apoiar nesses últimos momentos.

E não menos importante, agradeço ao meu noivo Alexsander que desde antes de eu entender que seria essa a profissão que eu escolheria, já me apoiava e tinha plena certeza de que eu daria meu melhor. Agradeço a você por fazer do meu sonho o seu, por me acompanhar para onde eu for e por nunca me deixar só, sem você, sem seu apoio, sem seu amor e sua dedicação a mim, eu não estaria onde estou.

RESUMO

A contínua utilização de produtos químicos não seletivos para o controle de insetos-pragas, como principal meio de controle, ocasionou o surgimento de pragas secundárias, danos ao ambiente e a saúde humana. Como uma forma de reduzir os prejuízos causados por esses compostos, uma alternativa é a utilização de mais de um método de controle, como fungos entomopatogênicos associados a óleos essenciais, ou seja, a associação do controle biológico com inseticidas botânicos, no controle de insetos-pragas. Entretanto, é importante testar a compatibilidade para assegurar uma ação conjunta destes. Assim o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial de *Pogostemon cablin* (Patchouli) sobre a germinação e as unidades formadoras de colônia (UFCs) do fungo *Metarhizium anisopliae*, em diferentes concentrações do óleo essencial (2,0%, 1,5%, 1,0%, 0,5% e 0,0%). Para isto, foram avaliados os parâmetros biológicos de *M. anisopliae* como a germinação e as unidades formadoras de colônias (UFCs), quando em contato com o óleo essencial de *P. cablin*. O óleo essencial de patchouli em diferentes concentrações não apresentou diferença significativa na germinação do fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, as UFCs, na concentração de 2,0% do óleo potencializou o desenvolvimento do fungo entomopatogênico quando comparada à testemunha.

Palavras-chave: inseto-praga; patchouli; inseticida botânico; controle biológico.

ABSTRACT

The continuous use of non-selective chemicals to control insect pests, as the main means of control, caused the emergence of secondary pests, damage to the environment and human health. As a way to reduce the damage caused by these compounds, an alternative is the use of more than one control method, such as entomopathogenic fungi associated with essential oils, that is, the association of biological control with botanical insecticides, in the control of insect pests. However, compatibility tests are important to ensure that they work together. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of the essential oil of *Pogostemon cablin* (Patchouli) on the germination and colony forming units (CFUs) of the fungus *Metarhizium anisopliae*, at different concentrations of the essential oil (2.0%, 1.5 %, 1.0%, 0.5% and 0.0%). For this, the biological parameters of *M. anisopliae* such as germination and colony forming units (CFUs) were evaluated when in contact with the essential oil of *P. cablin*. Patchouli essential oil at different concentrations showed no significant difference in the germination of the entomopathogenic fungus *M. anisopliae*, the CFUs at a concentration of 2.0% of the oil potentiated the development of the entomopathogenic fungus when compared to the control.

Keywords: insect pests; patchouli; conidia; control method.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO	10
2.1. Objetivo geral	10
2.2. Objetivo específico	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1. Produção florestal e o impacto dos insetos no setor	11
3.2. Métodos de controle de insetos	12
3.3. Controle biológico com fungos entomopatogênicos	13
3.3.1. <i>Metarhizium anisopliae</i>	14
3.4. Controle alternativo com óleos essenciais	16
3.4.1. Óleo essencial de <i>Pogostemon cablin</i>	17
3.5. Associação de métodos de controle	18
3.5.1. Compatibilidade de fungo entomopatogênicos com óleos essenciais	18
4. METODOLOGIA	19
4.1. Preparação de meio de cultura	19
4.2. Compatibilidade de <i>M. anisopliae</i> com óleo essencial de <i>P. cablin</i> ..	20
4.2.1. Germinação	20
4.2.2. Unidades formadora de colônia (UFCs)	21
4.2.3. Crescimento vegetativo	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6. CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

Com o avanço tecnológico no setor florestal, muitas pesquisas começaram a ser realizadas, e a busca pelo material de melhor procedência se tornou crucial no plantio das florestas. No entanto, ainda antes da implantação do material de boa qualidade, métodos de silvicultura devem ser feitos, como o controle de insetos-praga, antes e durante o plantio, pois o manejo adequado desses insetos é indispensável para a sanidade das florestas a fim evitar prejuízos futuros (BOTELHO; DAVIDE, 2002; REIS FILHO et al., 2021).

O Brasil é um país de clima Tropical, o que favorece a distribuição de insetos pelo território, uma vez que clima mais quente contribui com o crescimento e a reprodução destes animais. Muitos insetos podem causar danos em espécies vegetais de importância econômica, podendo ocorrer em intensidade variável, desde as raízes até as sementes. Com isso, os insetos-praga acabam atacando o que está disponível, tornando necessário, muitas vezes, o controle desses insetos (PINTO et al., 2007; FIORAVANTI, 2012).

O primeiro registro do controle de insetos-praga surgiu por volta de 2.000 a.C., com os indianos, os quais utilizaram inseticidas botânicos para o controle de pragas, assim como os chineses por volta do ano de 1.200 a.C., que através de inseticidas derivados de plantas, controlaram pragas em grãos armazenado (THACKER, 2002). No entanto, a utilização destes produtos reduziram a partir do ano de 1940, a partir de então produtos químicos passaram a ser amplamente utilizados. Porém, a contínua utilização de produtos químicos, não seletivos para o controle de insetos-pragas, como principal meio de controle, ocasionou o surgimento pragas, sobretudo no meio agrícola, bem como os efeitos negativos causados pelos compostos ao ambiente e à saúde humana (MARICONI, 1963; VIEIRA; FERNANDES, 1999; MARANGONI; DE MOURA; GARCIA, 2013).

Desse modo, novas substâncias tornaram-se fundamental no controle de insetos-praga, pois oferecem mais segurança, seletividade, reduzem os danos causados pelos produtos químicos, além da aplicabilidade em programas integrados de controle de insetos (MARANGONI; DE MOURA; GARCIA, 2013). A obtenção dessa matéria prima, na maioria das vezes, pode ser feita a partir do extrato das

plantas retirados das sementes e dos frutos, bem como de óleos essenciais extraídos de folhas, caule, flores e raízes.

A utilização de fungos entomopatogênicos também tornou-se bastante requisitada quando se fala de controle biológico, pois a maior vantagem está na utilização isolada ou integrada a outros métodos de controle (MARQUES et al., 2004). *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Cladicipitaceae: Hypocreales) são os fungos que apresentam grande variedade de hospedeiros com alta diversidade genética, sendo essas espécies utilizadas no controle de hemípteros, lepidópteros, coleópteros, dípteros e ácaros em diferentes culturas (ALVES, 1998).

Com a possibilidade de uso conjunto de inseticidas botânicos e fungos entomopatogênicos, estudos têm sido realizados para compreender quais são os efeitos destes inseticidas, em especial dos óleos essenciais no crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos (MARQUES et al., 2004). Os fungos entomopatogênicos, principalmente *B. bassiana* e *M. anisopliae*, são avaliados em estudos de compatibilidade com óleos essenciais como uma forma de integrar mais de um método de controle de maneira promissora (GONÇALVEZ, 2017; OLIVEIRA, 2019).

A utilização do controle químico como uma única alternativa para o controle de insetos trazer consequências, como pragas secundárias, populações de insetos resistentes e efeitos adversos ao ambiente e à saúde humana. Portanto, a utilização de fungos entomopatogênicos associados a inseticidas botânicos, tornou no cenário de hoje um meio promissor de minimizar os danos causados pelo uso desses compostos. No entanto, é necessário que a compatibilidade desses métodos seja avaliada, para que um não interfira no desempenho do outro.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a o efeito do óleo essencial de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth em diferentes concentrações, sobre a germinação e unidades formadoras de colônias (UFCs) do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch), em laboratório.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a porcentagem de conídios germinados do fungo *M. anisopliae*, quando em contato com diferentes concentrações do óleo essencial de *P. cablin*;
- Avaliar o número de unidades formadoras de colônia de *M. anisopliae*, quando em contato com o óleo essencial de *P. cablin*;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Produção florestal e o impacto dos insetos no setor

A produtividade de uma floresta pode ser determinada de acordo com o somatório de fatores bióticos e abióticos a partir da interação entre os mesmos (BALLONI 1985). O Brasil possui 9 milhões de hectares plantados de eucalipto, pinus e demais grupos, sendo que 9% dessa área vêm de florestas naturais legalmente manejadas. Os outros 91% de toda a madeira produzida, são para fins industriais no País, como a produção de painéis de madeira, pisos laminados, celulose, papel, produção energética e biomassa (IBÁ, 2022). No entanto, alguns aspectos podem contribuir para que ocorra uma diminuição da produtividade nas florestas, como o ataque de insetos-praga (SOARES et al., 2004). Como os insetos possuem uma diversificada distribuição geográfica no país e uma variedade de espécies e habitat, a seleção do seu hospedeiro se faz de acordo com o que está disponível, por conta disso, os insetos atacam e causam danos a planta, da raiz, até os frutos e sementes com uma intensidade variável (PINTO et al., 2007).

No plantio de *Pinus taeda* L. (Pinaceae: Pine), o ataque de formigas cortadeiras correspondem a 7,41% do preço da madeira em pé, sendo as formigas cortadeiras as causadoras de, aproximadamente, 30% dos gastos até o terceiro ciclo da floresta. *Atta* spp. e *Acromyrmex* spp. (Hymenoptera: Formicidae), popularmente conhecidas como “saúvas” e “quenquéns”, são algumas das principais pragas que afetam o desenvolvimento de plantações de *Pinus caribaea* Mor. (Pinaceae: Pine), podendo ocorrer o ataque em mudas recém-plantadas, ocasionado sua desfolha sucessiva e danos econômicos de até 14% do volume da madeira (ALÍPIO, 1989; REZENTE et al., 1983; HERNÁNDEZ; JAFFÉ, 1995).

Matrangolo et al. (2014) avaliou o crescimento de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden (Myrtales: Myrtaceae) sob o efeito de desfolha artificial e verificou que ocorreu uma queda na produção e faturamento, conforme a proporção da desfolha, tornando inviável economicamente a manutenção em áreas com ataques severos. Para ele, as estimativas demonstraram ser mais viável, economicamente, fazer o controle efetivo de insetos pragas que causam tal dano.

Em florestas plantadas de *Pinus* e de *Eucalyptus* as formigas cortadeiras são os insetos que mais causam danos na fase de pré-corte (áreas de reforma ou condução da floresta) e logo após o plantio e durante a condução das brotações. Por

conta disso a utilização de iscas tóxicas tornou-se comum, com o intuito de diminuir os danos causados por estes.

Na cultura do *Eucalyptus*, um dos insetos que tem gerado perdas significativas ao plantio é o percevejo-bronzeado-do-eucalipto (*Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé [Hemiptera: Thaumastocoridae]) (BARBOSA et al., 2010). Por este motivo, alguns estudos têm sido realizados a fim de se obter mais informações sobre estratégias de monitoramento e controle desse inseto praga (SMANIOTTO et al. 2017).

3.2. Métodos de controle de insetos

Durante os anos, para se controlar insetos praga, a utilização de compostos químicos sintéticos acabou se tornando um dos principais meios de controle. Entretanto, por mais que os efeitos tenham sido vantajosos, especialmente para a área agrícola, a utilização intensiva proporcionou o surgimento de pragas, além da periculosidade dos seus compostos para o ambiente e para a saúde humana (MARQUES et al., 2004).

Segundo a Agrofít (2022), os produtos liberados para o controle na cultura do eucalipto são: para formigas cortadeiras (*Acromyrmex crassispinus* Forel e *Atta sexdens* Linn. [Hymenoptera: Formicidae]) o fipronil (pirazol), para o cupim (*Aparatermes abbreviatus* Silvestri [Isoptera: Termitidae]) o produto utilizado é o tiametoxam (neonicotinóide), para o cupim-de-chifre (*Cornitermes bequaert* Emerson [Isoptera: Termitidae]) o produto indicado é o fipronil (pirozol) e o imidacloprido (neonicotinoide), a lagarta-desfolhadora (*Glena bipennaria* Guinée [Lepidoptera: Geometridae]) o produto é deltametrina (piretroide), para o psílideo de concha (*Glycaspis brimblecombei* Moore [Hemiptera, Psyllidae]) os produtos indicados são etofenproxi (éter difenílico) e acetamiprido (neonicotinoide) + bifentrina (piretroide). Para a cultura do *Pinus* nas formigas cortadeiras (*A. crassispinus* e *Atta sexdens rubilosa* Forel [Hymenoptera: Formicidae]) o produto liberado é o fipronil (pirazol), para a praga do pulgão-do-pinus (*Cinara atlântica* Wilson [Hemiptera, Aphididae]) o produto indicado é imidacloprido (neonicotinoide), para o cupim-de-chifre (*C. bequaerti*) o produto indicado é o fipronil (pirozol) e para o cupim (*Syntermes molestus* Burmeister [Isoptera: Termitidae]) o produto indicado é o fipronil (pirozol).

Apesar da gama de produtos liberados no Brasil, não há, até o momento, nenhum inseticida botânico liberado para o controle de insetos-praga em espécies

florestais. A utilização de inseticidas botânicos pode ser uma alternativa relevante para o controle desses insetos, pois são de fácil obtenção e utilização, não possuem custo elevado quando comparados aos produtos químicos sintéticos. Outro fato importante é que a matéria prima para a produção dos inseticidas botânicos, na maioria das vezes, é de fácil obtenção, pois podem ser óleos essenciais de folhas, frutos e troncos (MARQUES et al., 2004).

Estudos tem demonstrado eficácia na utilização de inseticidas botânicos a base de óleos essenciais como um método de controle contra insetos, em especial os mosquitos. Devido aos seus compostos biodegradáveis e não tóxicos, em especial para organismos não-alvo, tem sido uma opção segura no controle desses insetos (MALECK, 2021) e uma alternativa em potencial na utilização integrada à outros meios de controle.

3.3. Controle biológico com fungos entomopatogênicos

A utilização de fungos entomopatogênicos é considerado controle microbiano e está classificado dentro do controle biológico, que é definido como a ação de inimigos naturais (predadores, parasitas e patógenos microbianos) para o controle de insetos. Estes fungos são de fácil produção e apresenta eficácia contra uma diversidade de insetos, além da grande vantagem de poderem ser utilizados isoladamente ou integrados com outros métodos de controle (MARQUES, 2004; ZIMMERMANN, 2008 e JUNIOR e GUARUS, 2011). As espécies *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* apresentam uma variedade de hospedeiros e alta diversidade genética, tornando primordial realizar bioensaios para selecionar isolados mais virulentos à praga-alvo (ALVES, 1998).

Existem inúmeras vantagens em se utilizar o controle com entomopatógenos, como a seletividade e especificidade que são características de alguns patógenos. Essas características os tornam benéficos quando comparados a inseticidas químicos de largo espectro. A utilização de entomopatógenos faz com que muitas vezes ocorra a sua multiplicação e dispersão no ambiente, resultando em não apenas a morte do inseto, mas também de suas gerações seguintes, além de não poluir o meio ambiente e não ser tóxico aos animais.

No entanto, as especificidades de alguns patógenos podem ser de curto prazo, quando comparado economicamente aos defensivos químicos que atuam sobre variadas pragas e alguns patógenos necessitam de condições favoráveis para

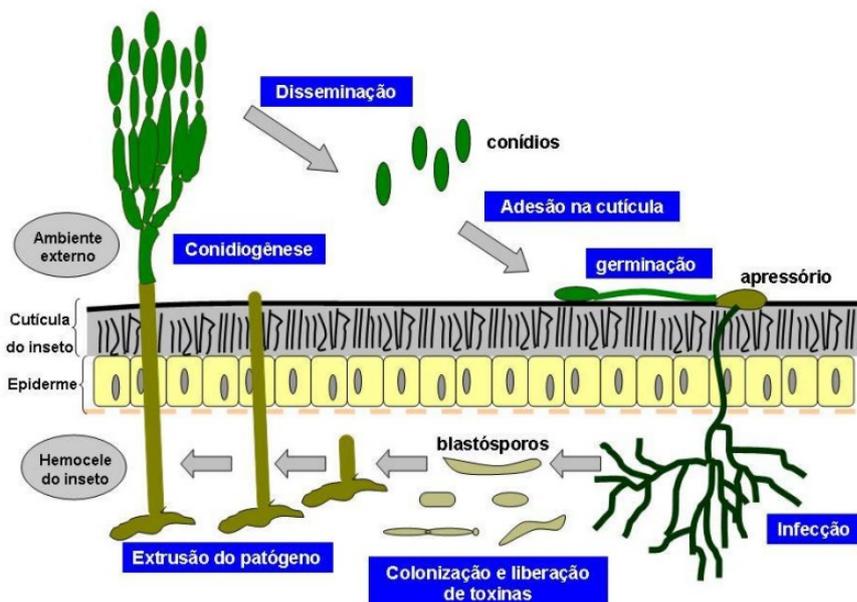
se desenvolver e ser eficiente, características que não ocorre com os defensivos químicos (ALVES, 1998). Na América Latina a utilização desses fungos é favorecida pela diversidade de espécies existentes e suas linhagens, assim como as condições climáticas que possibilitam a introdução do patógeno em campo, mas é importante conhecer cada região para selecionar o isolado que melhor se adapta ao local (ALVES, 1998 e MORA; CASTILHO; FRAGA, 2016).

3.3.1. *Metarhizium anisopliae*

O fungo entomopatogênico *M. anisopliae* foi descrito pela primeira vez pelo russo Metschnikoff no final do século XIX. Este pesquisador na época, avaliou o potencial de *M. anisopliae* no controle de uma determinada espécie de besouro, no entanto, apenas um século depois obteve resultados, os quais são utilizados até hoje (FARIA; MAGALHÃES, 2001). No Brasil o fungo *M. anisopliae* começou a ser produzido em 1969 no Nordeste, para o estabelecimento do programa de controle da cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar. Devido aos bons resultados, laboratórios foram construídos nas usinas da Região Nordeste para a produção em larga escala desse entomopatógeno, para depois serem produzidos e comercializados no Estado de São Paulo (MONTEIRO et al. 2015).

Quando o fungo ataca o hospedeiro, para que ocorra o ciclo, é necessário que as condições ambientais estejam favoráveis (temperatura, umidade e radiação ultravioleta), assim como a nutrição e suscetibilidade do hospedeiro, para que ocorra os cinco estágios descrito por Alves (1998). Os principais tipos de propágulos de *M. anisopliae* são os conídios, que são capazes de aderir a superfície do hospedeiro a partir das condições ótimas que pode variar de cada espécie, ocorrendo a germinação. A partir desse processo, ocorrerá a formação de um tubo germinativo e das hifas, que possibilitarão que ocorra a penetração no corpo no inseto (de forma física ou química), nas regiões axilares, aparelho bucal ou ânus dos insetos. Em seguida, as hifas irão colonizar a parte interna do inseto causando sua morte, o tempo pode variar de acordo com o inseto (de 72 a 120 horas) e pôr fim a reprodução que também é variável, todavia, fungos entomopatogênicos se caracterizam pela exposição dos propágulos reprodutivos no corpo de seu hospedeiro (Alves, 1998) (Figura 1).

Figura 1 – Ciclo básico da relação patógeno-hospedeiro de fungos anamórficos. Ciclo do *M. anisopliae* (Hypocreales) sobre a *Mahanarva fimbriolata* (cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar).



Fonte: Adaptado por Mascarin (2010), da ilustração de Alves (1998).

Soliman (2014), realizou um estudo no qual um dos objetivos foi avaliar a eficiência de micoinseticidas no controle do percevejo bronzeado e a compatibilidade de agrotóxicos com fungos entomopatogênicos. Os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* foram os mais patogênicos as ninfas e adultos de *T. peregrinus* e no estudo de compatibilidade alguns agrotóxicos na concentração ideal são compatíveis aos entomopatógenos como o Imidacloprid que podem ser utilizados no controle integrados de insetos-pragas.

Em um experimento feito por Travaglini et al. (2017), com o intuito de encontrar uma forma de controle para a *Atta sexdens rubropilosa*, foi feita uma cápsula capaz de carrear o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* para o interior das colônias de formiga, onde as iscas foram incorporadas nos fungos simbiote em geral nas primeiras 24h e observou que aparentemente as formigas operárias não distinguiram o fungo patogênico e nem a hipótese formulada com fungos endofíticos.

Para avaliar a virulência do *M. anisopliae* no controle de *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae), cinco isolados do fungo entomopatogênico foram aplicados sobre o inseto. Os resultados mostraram que ovos, ninfas e adultos de *T. limbativentris* são suscetíveis à infecção pelo isolado CG 891 de *M. anisopliae*, sendo o fungo um promissor agente biológico no controle dessa praga (RAMPELOTTI,

2022). Os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Metsch.) são eficientes no controle *Acromyrmex heyeri* Forel (Hymenoptera:Formicidae), com destaque para *B. bassiana* (SANTOS et al., 2020).

3.4. Controle alternativo com óleos essenciais

Assim como a utilização de fungos entomopatogênico para o controle de insetos praga (MARQUES et al., 2004), tem-se pesquisado e utilizado os inseticidas botânicos, na forma de óleos essenciais e extratos de vegetais (SOUZA, 2014; OTANNI et al. 2013 e RODRIGUES et al., 2017). As plantas sintetizam óleos essenciais como uma resposta ao ambiente ou a influência externa em que os vegetais se encontram, fazendo com que realizem atividade reprodutora como a atração de agentes polinizadores e como forma de defesa através de repelente ou biocida (SANTOS, 2011).

Begha et al. (2018) realizaram um experimento que tinha o propósito de identificar coleópteros coletados em armadilhas contendo óleo essencial de citronela e seus principais componentes (citronelal, citronelol e geraniol). No estudo observou-se que um número expressivo de coleópteros, considerados praga de espécies vegetais, foram atraídos pelos compostos testados e em especial *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera:Chrysomelidae) representando 54,68% das coletas com 694 indivíduos.

O óleo essencial de *Eucalyptus microcorys* F. Muell (Myrtales: Myrtaceae) apresentou atividade antifúngica sobre *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. (Uredinales: Pucciniaceae). Os óleos essenciais de nim, citronela e capim-limão diminuíram o crescimento micelial dos fungos do gênero *Penicillium* sp. (Eurotiales: Trichocomaceae), mostrando que os óleos essenciais também podem ser utilizados para o controle de doenças (BRITO et al., 2018 e CAETANO et al., 2017).

Bressan et al. (2018), em seu trabalho avaliou a patologia de sementes de angico-vermelho e o potencial dos óleos essenciais de guaçatonga, melaleuca, pitanga e chia no controle de *Rhizoctonia* sp. (Cantharellales: Ceratobasidiaceae) *in vitro*. Foi possível observar que o óleo essencial de melaleuca ocasionou menor desenvolvimento de *Rhizoctonia* sp. *in vitro* e obteve maior germinação de sementes.

3.4.1. Óleo essencial de *Pogostemon cablin*

O gênero *Pogostemon* da família Lamiaceae, possui uma distribuição cosmopolita com aproximadamente 300 gêneros e 7500 espécies, sendo que no Brasil ocorrem 38 gêneros e cerca de 500 espécies (SOUZA; LORENZI, 2012). *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. foi descrita pela primeira vez no ano de 1845, pelo botânico Pelletier-Sautelet, nas Filipinas (SHARMA, 1996) e é comumente conhecido como Patchouli.

É uma planta dicotiledônea, pertencente à família Podostemaceae, a qual possui porte ereto e ramificado, podendo atingir de 0,5 m a 1,0 m de altura. As folhas são ovais e alongadas, com tricomas abaxiais. Sua inflorescência é terminal ou axilar, densa e apresenta flores pequenas e irregulares, bissexuais, de cor branca a roxa. Por ser uma planta tropical, possui um bom crescimento em regiões subtropicais, seu cultivo ocorre principalmente nos países China, Índia, Malásia, Indonésia e América do Sul, por conta das condições climáticas (JOY et al., 2001).

O óleo essencial de Patchouli pode ser encontrado em todas as partes da planta, desde as raízes até as folhas, contudo experimentos mostram que o óleo extraído das folhas superiores e os galhos apresentam óleo de melhor qualidade (VIJAYKUMAR, 2004). Tais características facilitam a extração do óleo, existindo então variados métodos para tal, por conseguinte, alguns fatores genéticos e ambientais, dentre outros, podem influenciar nesse rendimento, podendo intervir na produção do óleo essencial (COSTA et al., 2013).

Desse modo, a produção e utilização do óleo de *P. cablin* foi expressivamente adotado por empresas de perfumaria e cosmética. Devido a característica duradoura em sua fragrância, o óleo tornou-se muito requisitado na fabricação de sabonetes, cosméticos, incensos, produto de higiene oral e produto pós-barba, estando entre um dos dezoito óleos essenciais com maior importância do mundo (SANT'ANA, 2010).

Estudos vem sendo conduzidos a fim de avaliar o potencial inseticida de óleos essenciais, como o de patchouli, lavanda e citronela, sobre os insetos adultos do percevejo-bronzeado do eucalipto (*T. peregrinus*). Nesse experimento foi possível observar que os três óleos essenciais quando aplicados nas folhas de *Eucalypto dunnii* Maiden (Myrtales: Myrtaceae) diminuíram a longevidade de *T. peregrinus* e o óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) na concentração de 1,25% se destacou dos demais (DALLACORT, 2017).

3.5. Associação de métodos de controle

Alternativas de controle de pragas que não seja químico, tem tido muita utilização no manejo integrado de pragas (MIP), por conta disso, os inseticidas botânicos e os fungos entomopatogênicos estão sendo vistos como ferramentas eficientes para reduzir os impactos causados pelos produtos químicos (MERTZ et al., 2010).

3.5.1. Compatibilidade de fungo entomopatogênicos com óleos essenciais

O controle dos insetos-praga com a utilização conjunta de um ou mais métodos de controle, tornou-se uma alternativa que vem sendo praticada. No estudo realizado por Marques et al. (2004), foi possível observar o efeito do óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade dos fungos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *Paecilomyces farinosus* (Holm Ex S. F. Gray) Brown & Smith (Eurotiales: Trichocomaceae) em diferentes concentrações do óleo. O crescimento e a esporulação de todos os fungos foram afetados, assim a interação entre esses fungos entomopatogênicos com o óleo de nim não foi eficiente.

O efeito de óleos sobre fungos entomopatogênicos vem sendo testado e neste sentido, o óleo de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss (Sapindales: Magnoliopsida)) não afeta a germinação e o crescimento do fungo entomopatogênicos *M. anisopliae* (SANTOS, 2016). O óleo essencial de alho, testado com os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, mostrou compatibilidade com estes, ao contrário do observado com os óleos essenciais de manjerona e artemisia (GONÇALVES, 2017). Os produtos fitossanitários alternativos (Baicao, Orobor, Topneem, Rotenat e Compostonat), nas concentrações recomendadas pelo fabricante (CR), metade ($\frac{1}{2}$ CR) e duplo (2CR), foram compatíveis com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (POTRICH et al., 2018).

O potencial inseticida dos óleos vegetais de linhaça, canola, milho e girassol, com a ação dos fungos entomopatogênico *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre *Ceratitits capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) (mosca-da-fruta) demonstraram resultados promissores, segundo estudos realizados por Souza (2014). Os óleos testados, apresentaram uma redução no desenvolvimento do inseto praga e o fungo *B. bassiana* foi mais eficiente na mortalidade de *C. capitata* do que o fungo *M. anisopliae*.

4. METODOLOGIA

4.1. Preparação de meio de cultura

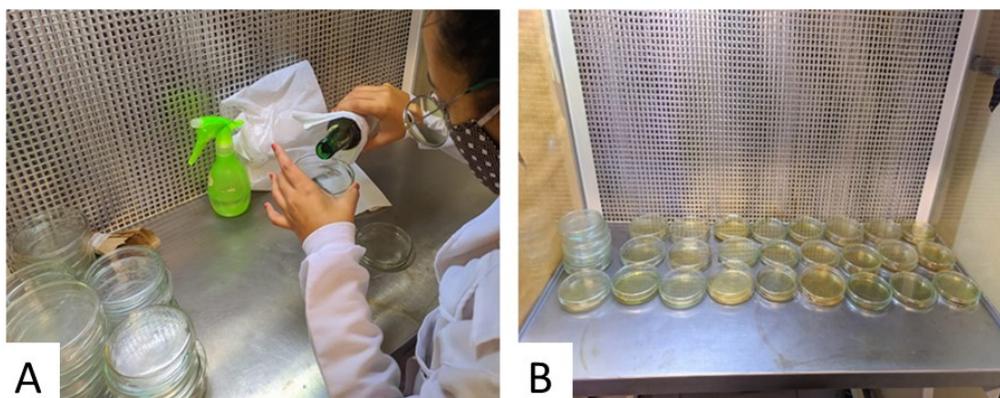
Foi preparado o meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) esterilizado (45-50° C) em frasco de vidro. Este meio de cultura foi agitado a fim de se obter a homogeneização dos componentes para, posteriormente, serem vertidos em placas de Petri de vidro de 100 mm x 15 mm (Figura 2).

Após a solidificação do BDA, com o auxílio de uma micropipeta automática, 100 µL de suspensão do fungo contendo $1,0 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹ foi espalhado sobre o meio de cultura com a ajuda de uma alça de Drigalski.

O óleo essencial de *P. cablin* foi fornecido pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). A partir do óleo a 100% foi realizada a diluição, utilizando-se água e o tensoativo Tween 80® (0,01%). Para os tratamentos, utilizou-se a concentração de *P. cablin* em 2% (T1), 1,5% (T2), 1% (T3), 0,5% (T5) e 0% (T5). O fungo entomopatogênico *M. anisopliae* foi fornecido pela UTFPR isolado IBCB425 utilizado na concentração recomendando pelo fabricante ($1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹).

Para cada tratamento, cinco placas de Petri e cinco lâminas de microscópio foram preparadas, sendo cada placa/lâmina considerada uma repetição (Figura 2). As placas foram incubadas em uma câmara climatizada, tipo B.O.D., a temperatura de 26° C ± 2°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12h.

Figura 2 –A) Meio de cultura sendo vertido em placa de Petri após a esterilização em autoclave. B) Placas de Petri contendo meio de cultura, utilizadas nos experimentos e, posteriormente, incubadas na BOD.



Fonte: A autora (2020)

4.2. Compatibilidade de *M. anisopliae* com óleo essencial de *P. cablin*

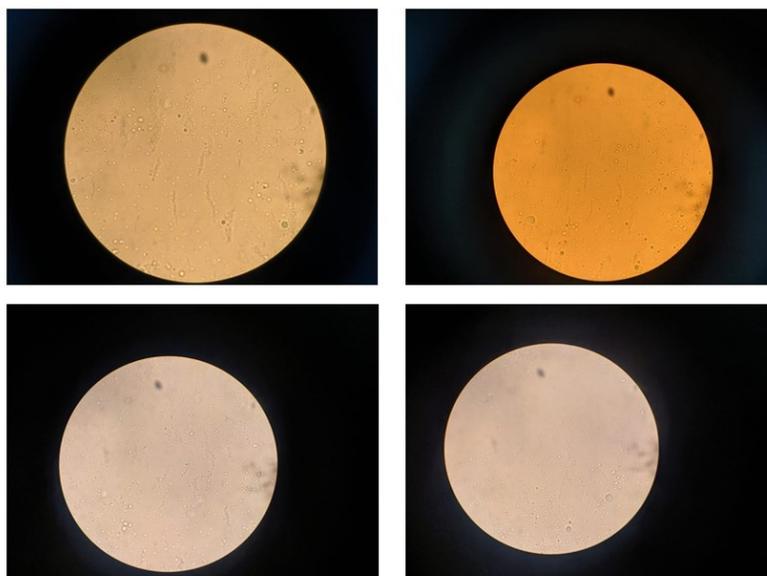
Os parâmetros biológicos de *M. anisopliae* avaliados foram germinação, unidades formadoras de colônias (UFCs) e crescimento vegetativo.

4.2.1. Germinação

Para avaliar germinação, o meio de cultura BDA foi vertido em placas de Petri (100 mm x 15 mm) contendo uma lâmina de microscópio (76 mm x 26 mm) na parte inferior. Para cada tratamento, cinco placas de Petri / lâminas de microscópio foram preparadas, cada lâmina sendo considerada uma repetição. Após a solidificação do BDA, com o auxílio de uma micropipeta automática, 100 µL de suspensão do fungo contendo $1,0 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹ foi espalhado sobre o meio de cultura com a ajuda de uma alça de Drigalski.

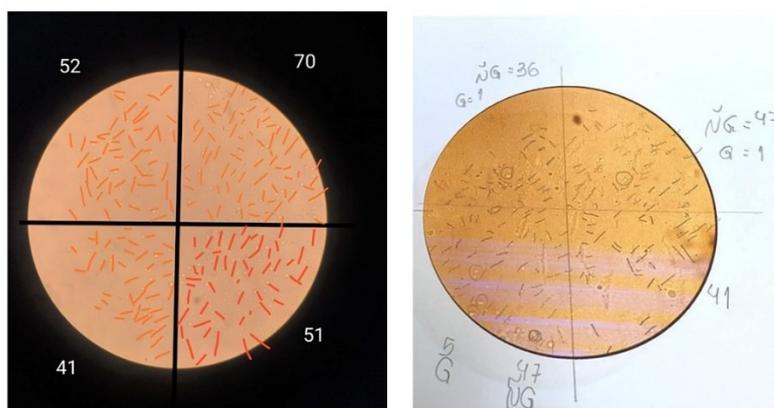
Na sequência, foi pulverizada 100 µL do óleo essencial de *P. cablin*, nas diferentes concentrações, conforme o tratamento, sobre a lâmina preparada. A pulverização do óleo essencial foi com aerógrafo Pneumatic Sagymia®, acoplado a bomba Fanem® de pressão constante. Essas placas foram acondicionadas em câmara climatizada, tipo B.O.D. em temperatura de 26°C ± 2°C, umidade relativa de 70% ± 10%, fotoperíodo de 12h, por 16h. Depois desse período a germinação foi avaliada, o número de conídios germinados (com formação do tubo germinativo) e não germinados (sem a formação do tubo germinativo) foram contados em microscópio de Luz (Tecnival) com aumento de 40x (Figuras 3 e 4).

Figura 3– Fotos obtidas no Microscópio de Luz com aumento de 40x para observação de conídios germinados e não germinados.



Fonte: A autora (2020)

Figura 4– Imagens representando a forma como foi realizada a contagem de conídios germinados e não germinados



Fonte: A autora (2020)

A germinação dos conídios foi calculada utilizando a equação:

$$P = \left[\frac{CG}{CG+CNG} \right] \times 100. \text{ Onde:}$$

P = porcentagem de conídios germinados; CG = Conídios germinados; CNG = Conídios não germinados.

4.2.2. Unidades formadora de colônia (UFCs)

As UFCs foram avaliadas pela inoculação de 100 µL de suspensão ($1,0 \times 10^3$ con. mL⁻¹) na superfície do meio BDA, em placas de Petri, sendo preparadas cinco

placas por tratamento. O óleo essencial de *P. cablin* foi então pulverizado nas placas e estas incubadas em câmara climatizada, durante seis dias, nas mesmas condições descritas anteriormente. Posteriormente, as UFCs foram quantificadas, de acordo com à metodologia descrita por Potrich et al. (2018).

4.2.3. Crescimento vegetativo

Para avaliar o crescimento vegetativo, o fungo foi inoculado com uma agulha de platina em três pontos na superfície do meio de cultura BDA em placas de Petri (150 mm x 15 mm), usando cinco placas de Petri para cada tratamento. As placas de Petri foram incubadas em câmara climatizada sob as condições descritas anteriormente. A pulverização do óleo essencial de *P. cablin* foi realizada, utilizando-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma® acoplado a uma bomba Fanem® de pressão constante (1,2 Kgf/cm²). A pulverização foi realizada 24 h após a inoculação para evitar a remoção dos conídios. Posteriormente, as placas de Petri retornaram a câmara climatizada.

Após sete dias, foi observado que as placas estavam infectadas e um novo teste foi feito, seguindo todas as condições descritas acima, e, após o sétimo dia foi observado que o teste novamente contaminou como mostra a figura 5, não sendo possível dar continuidade à esse experimento, devido a pandemia e locomoção até a UTFPR.

Figura 5– Teste de crescimento vegetativo (CV), com os meios de cultura contendo os tratamentos e a contaminação que inviabilizou a análise



Fonte: A autora (2020)

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância com auxílio do

programa estatístico RStudio. Para saber o comportamento dos dados, foi feito um Teste de Normalidade pelo RStudio, onde foi possível perceber que os dados não são normais, sendo necessário fazer Log dos dados de UFC e Raiz $(X)/100$ para os dados de Germinação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação de compatibilidade do óleo essencial de *P. cablin* (patchouli) com o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* pode ser observado que as diferentes concentrações do óleo de patchouli não interferiu na germinação do fungo, pois não houve diferença significativa entre as concentrações analisadas e a testemunha (Tabela 1). Quanto à formação das UFCs, quando em contato com o tratamento com o óleo essencial de patchouli, a concentração de 2,0% (20,2 unidades), diferiu significativamente da testemunha (3,6 unidades) (Tabela 1).

Tabela 1 – Unidades formadoras de colônia (UFC), porcentagem de germinação do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* após contato com o óleo essencial de *P. cablin*

Tratamentos	Concentração	UFCs	Germinação
		unidade	%
T1	2,0	20,20 ± 11,48 a	38,35 ± 20,24 a
T2	1,5	4,00 ± 1,50 b	7,99 ± 4,49 a
T3	1,0	12,00 ± 7,04 ab	20,50 ± 27,40 a
T4	0,5	3,20 ± 1,78 b	25,61 ± 13,80 a
T5	0,0	3,60 ± 2,70 b	37,80 ± 27,30 a

Resultado das unidades formadoras de colônias (UFCs) e germinação por tratamento (T1, T2, T3, T4 e T5) em diferentes concentrações (2,0; 1,5; 1,0; 0,5 e 0,0%) após serem submetidas as análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si pelo teste paramétrico de Tukey a 5% de probabilidade. Letras iguais indicam que os tratamentos não obtiveram diferença significativamente. **Fonte: A Autora (2022).**

Verificou-se que para as UFCs o tratamento um (T1) na concentração de 2,0% do óleo essencial de patchouli, apresentou maior número de unidades formadoras de colônias, seguido do tratamento três (T3) na concentração de 1,0% do óleo essencial com 12,00 UFCs. Sendo que os demais tratamentos diferiram do tratamento T1, apresentando menor número de UFCs.

A patogenicidade de *M. anisopliae* sobre determinados insetos já é conhecida. Velozo (2018) testou a patogenicidade de isolados de fungos entomopatogênicos *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *Cordyceps* spp. e *S. insectorum* contra *T. peregrinus*, em diferentes temperaturas. Pode ser observado que o isolado IBCB425 (*M. anisopliae*) foi o mais virulento, os demais foram mais patogênicos nas temperaturas de 25 e 30 °C. No manejo de pragas a utilização de mais de um método de controle muitas vezes se faz necessária para obter o resultado esperado (SIMBERLOFF; STILING, 1996). No trabalho realizado por Gonçalves (2017), foram avaliados *in vitro* os óleos essenciais de alho, artemisia, citronela, cravo, manjerona, melaleuca e orégano nas

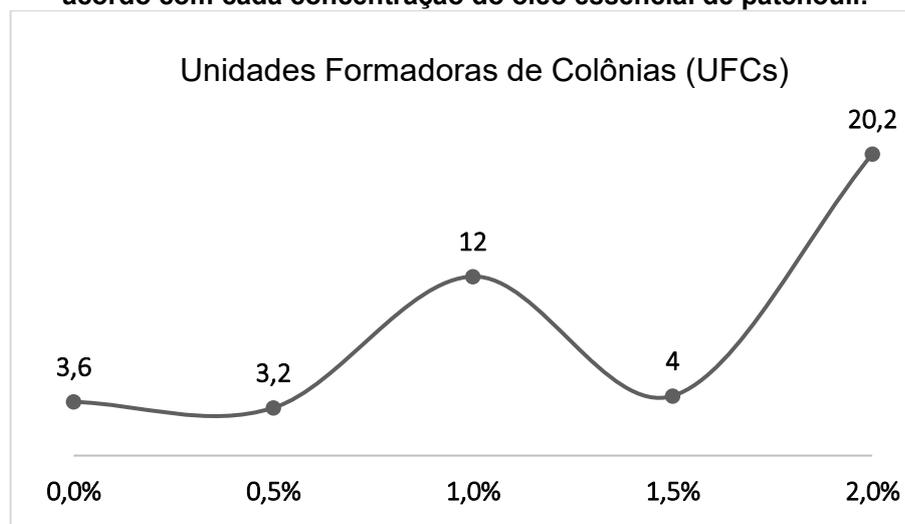
concentrações de 0,0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,0% (v/v) sobre o fungo *M. anisopliae*, sendo que os óleos de alho, manjerona, e melaleuca foram considerados compatíveis.

Nesses cenários a importância de estudar produtos que sejam compatíveis com os fungos entomopatogênico, tornou-se necessária, uma vez que a utilização integrada apresenta um papel importante no controle de pragas. Velozo (2018) utilizou *M. anisopliae* formulado em óleo e em pó e comparou com o conídio puro. O adjuvante Nimbus® causou efeito negativo na germinação dos conídios de *M. anisopliae*, de 0 a 13%. No entanto, as combinações de óleo de girassol + Natur'óleo® (40%) permitiu a germinação de 86,55% dos conídios, óleo de milho + Iharol Gold® (30%) 89,66% de germinação dos conídios e óleo de milho + Assist® (30%) 97,55% de germinação dos conídios.

Estudos realizados sobre o efeito de óleos essenciais com o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* mostraram resultados promissores, como o estudo feito por De Moraes et al. (2009) que teve como objetivo avaliar, em laboratório, a ação do óleo de nim em diferentes concentrações sobre os fungos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Trichoderma harzianum* Rifai (Hypocreales :Hypocreaceae) e *Lecanicillium lecanii* Zimm Zare & W. Gams (Hypocreales: Cordycipitaceae). O experimento mostrou que o crescimento micelial das colônias não foi afetado pela utilização do óleo essencial de nim nas concentrações de 0, 1, 10, 100, 1.000, 10.000 e 100.000 µ/L adicionado antes e após autoclavagem, resultando no desenvolvimento dos fungos para ambas as concentrações.

A potencialização do desenvolvimento do fungo a partir de óleos essenciais, pode ser uma maneira ainda mais eficaz no método integrado de controle contra insetos pragas. Nesse estudo as concentrações acima de 1% auxiliaram no desenvolvimento de *M. anisopliae* como mostra o Grafico 1, sendo possível observar que houve uma variação na quantidade de colônias formadas de acordo com a concentração do óleo essencial de patchouli e apesar da concentração de 1,5% do óleo ter ficado próxima da testemunha, mostrou que mesmo assim, o fungo se desenvolveu.

Gráfico 1 – Número médio de colônias formadas do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* de acordo com cada concentração do óleo essencial de patchouli.



Fonte: A autora (2022)

Embora os estudos realizados até o momento não relatem o efeito do óleo essencial de *P. cablin* sobre o desenvolvimento do fungo *M. anisopliae*, é possível observar que o fungo tem potencial de compatibilidade com os óleos essenciais testados (VELOZO, 2018; LIMA, 2016 e DE MORAIS et al., 2009), assim como no presente experimento. Além do mais, pesquisas sobre os efeitos do óleo essencial de *P. cablin* sobre fungos entomopatogênicos já foram realizadas, na qual, em sua maioria, a concentração utilizada do óleo essencial foi de 1%. Ricardo (2019) observou que o isolado IBCB 66 (*B. bassiana*) e o óleo essencial de *P. cablin* (1%), de forma isolada, não apresentaram potencial inseticida no controle de *Atta sexdens*, mas quando associados, provocaram 66,67% de mortalidade em operárias de *A. sexdens*, sendo significativo para o controle em condições de laboratório.

Stasiak (2018) verificou que o óleo essencial de *P. cablin*, na concentração de 1%, causou 30,20% de mortalidade em *Chrysodeixis includen* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). Dallacort (2017) verificou que depois de 108 horas de aplicação deste mesmo óleo essencial, na concentração de 1,25%, causou 100% de mortalidade de adultos de *T. peregrinus*.

Portanto, testes desenvolvidos em laboratório são de suma importância para que se possa conhecer a resposta do patógeno aos produtos testados em condições ótimas e adversas (POTRICH et al., 2018). A utilização do óleo essencial de patchouli no presente trabalho apresentou para germinação e UFCs, um potencial no uso combinado com o *M. anisopliae*, a utilização integrada de ambos pode corroborar em

um potencial inseticida no controle de insetos-pragas nos programas de controle biológico. No entanto, para saber a toxicidade do *P. cablin* sobre fungo entomopatogênicos *M. anisopliae*, se faz necessário mais estudos que mostrem a interação do mesmo com o óleo essencial de patchouli com *M. anisopliae*.

6. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *P. cablin*, em diferentes concentrações, não provocou diferença significativa na germinação do fungo entomopatogênico *M. anisopliae*. As UFCs, na concentração de 2,0% do óleo, potencializou o desenvolvimento do fungo entomopatogênico.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em, 2022.
- ALÍPIO, A. S. Controle de formigas cortadeiras. **Normas técnicas da Pains Florestal**, 1989. 8p.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998. p.289-381.
- BALLONI, E.A. – Produtividade florestal. **Celulose e papel**, São Paulo, 1(3): 57-60, nov./dez. 1985.
- BARBOSA, L. R. et al. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 30, n. 61, p. 75-77, 2010
- BEGHA, B. P.; ANTUNES, C. H.; MILLÉO, J. Coleopterofauna (Insecta: Coleoptera) coletada em armadilhas com óleo essencial de citronela ou seus componentes no município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. **EntomoBrasilis**, v. 11, n. 2, p. 85-94, 2018.
- BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.. Métodos silviculturais para recuperação de nascentes e recomposição de matas ciliares. **Simpósio Nacional sobre Recuperação de Áreas Degradadas**, v. 5, p. 123-145, 2002.
- BRESSAN, D. F. et al. Patologia e germinação de sementes de angico-vermelho (*Parapiptadenia rígida* (Benth) Brenan) e potencial de óleos essenciais no controle de *Rhizoctonia* sp. *In vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Técnico-Científica**, n. 10, 2018.
- BRITO, R. et al. Utilização de Óleos Essenciais de Capim-limão (*Cymbopogon citratus*), Citronela (*Cymbopogon nardus*) e Óleo de Nim (*Azadirachta indica*) no Controle de Insetos e Microorganismos. **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.
- CAETANO, A. R. S. et al. **Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eucalyptus microcorys* sobre *Hemileia vastatrix***. 2017.
- COSTA, G. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; DESCHAMPS, C. Rendimento e composição do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) conforme o tempo de extração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 319-324, 2013.
- DALLACORT, S. **Avaliação de óleos essenciais sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera, Thaumastocoridae)**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

DE MORAIS, L. A. S. et al. Efeito de diferentes concentrações do óleo de nim no crescimento micelial de fungos entomopatogênicos e *Trichoderma harzianum*. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009.**

DE OLIVEIRA, H. K. S. et al. Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com óleos essenciais de ação inseticida. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Fitossanidade. 2019.**

FARIA, M. R. de; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 22, n. 1, p. 18-21, 2001.

FIORAVANTI, C. O cardápio dos próximos anos. Edição 198 - Agosto de 2012, **Revista FAPESP**. Disponível em: <<https://www.cnpma.embrapa.br/nova/mostra2.php3?id=942>>. Acesso em, 2022.

GONÇALVES, V. P. Compatibilidade de agrotóxicos e óleos essenciais a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Embrapa Clima Temperado-Tese/dissertação (ALICE). 2017.**

HERNÁNDEZ, J. V.; JAFFÉ, K. Dano econômico causado por populações de formigas *Atta laevigata* (F. Smith) em plantações de *Pinus caribaea* Mor. e elementos para o manejo da praga. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, n. 2, p. 287-298, 1995.

IBÁ, **IBÁ Relatório Anual**. Ano base 2021. Disponível em: <<https://www.iba.org/produtos-florestais>>. Acesso em, 2022.

JOY, P.P. et al. Aromatic plants. **Tropical Horticulture**, v. 2. (eds. Bose, T.K., Kabir, J., Das, P. and Joy, P.P.). Naya Prokash, Calcutta, p. 633-733, 2001.

JUNIOR, M. E.; GUARUS, I. F. F. Controle biológico de insetos pragas. **Rio de Janeiro: I Seminário Mosaico**, 2011.

LIMA, J. D. A. de. **Produtos biológicos e naturais à base de plantas sobre carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini 1887)**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

MARANGONI, C.; DE MOURA, Neusa Fernandes; GARCIA, Flávio Roberto Mello. UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE PLANTAS NO CONTROLE DE INSETOS. **Revista de ciências ambientais**, v. 6, n. 2, p. 92-112, 2013.

MARICONI, F. A. M. SITUAÇÃO ATUAL DA ENTOMOLOGIA ECONÔMICA BRASILEIRA. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURE-Revista de Agricultura**, v. 38, n. 4, p. 171-176, 1963.

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, 2004.

MERTZ, N. R. et al. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in vitro. **BioAssay**, v. 5, 2010.

MONTEIRO, A. C. et al. **Composições contendo o isolado jab 68 do fungo entomopatogênico metarhizium anisopliae e uso das composições**. 2015.

MORA, M. A. E.; CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E. Fungos entomopatogênicos: enzimas, toxinas e fatores que afetam a diversidade. **Rev Bras Prod Agroind**, v. 18, p. 335-49, 2016.

MASCARIN, G.M.; PAULI, G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. In: Madelaine Venzon; Trazilbo José de Paula Júnior; Angelo Pallini. (Org.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças na Agricultura Orgânica**. 1 ed. Viçosa: U.R. EPAMIG ZM, 2010, v. 4, p. 169-195.

OOTANI, M. A. et al. Utilização de óleos essenciais na agricultura. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-174, 2013.

POTRICH, M. et al. Compatibility of *Beauveria bassiana* and alternative phytosanitary products. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 6, p. 1802-1811, 2018.

PINTO, A. A. et al. **Avaliação de danos causados por insetos em sementes de Andiroba [(Carapa guianensis Aubl.) e Andirobinha (C. procera DC.)(Meliaceae)] na Reserva Florestal Adolpho Ducke em Manaus, AM, Brasil**. 2007. 60f. Dissertação (Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2007.

RAMPELOTTI, F. T. et al. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre as fases do desenvolvimento de *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, p. 141-148, 2022.

REIS FILHO, W. et al. Manejo de formigas cortadeiras em plantios de *Pinus* e *Eucalyptus*. **Embrapa Florestas-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2021.

REZENDE, J. P.; PEREIRA, A. R.; OLIVEIRA, A. D. Espaçamento ótimo para a produção de madeira. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 7, n.1, p.30-43, 1983.

RICARDO, A. da S. **Associação de *Beauveria bassiana* e do óleo essencial de *Pogostemon cablin* para o controle de *Atta sexdens***. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

RODRIGUES, J. S. et al. Atividade inseticida de extratos vegetais e seletividade a insetos benéficos. **Revista Semiárido De Visu**, v. 5, n. 3, p. 138-148, 2017.

SANT'ANA, T. C. P. de et al. **Influência do armazenamento de folhas secas no óleo essencial de patchouli** (*Pogostemon cablin* Benth.). 2010.

SANTOS, A.S. da. **Óleos essenciais: uma abordagem econômica e industrial**. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. 386p.

SANTOS, Í. C. S. et al. Biocontrole de formiga cortadeira do gênero *Acromyrmex* por fungos entomopatogênicos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e3089108494-e3089108494, 2020.

SIMBERLOFF, D.; STILLING, P. Risks of species introduced for biological control. **Biological Conservation**, v.78, p. 185-192, 1996.

SOARES, C. P. B. et al. Especificação de um modelo de crescimento e produção florestal. **Revista Árvore**, v. 28, n. 6, p. 831-837, 2004.

SMANIOTTO, M. A. et al. Efeito da cor de armadilhas adesivas para monitoramento de *Thaumastocoris peregrinus* carpintero & dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) no campo. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 3, 2017.

SOLIMAN, E. P. **Controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) com fungos entomopatogênico**. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2014. 109 p.

SOUZA, M. dos S. de. **Bioatividade de óleos vegetais e fungos entomopatogênicos em mosca-das-frutas *Ceratitidis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)**. 2014.

SOUZA, V.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.

STASIAK, M. **Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

THACKER, J. R. M. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge University Press, 2002.

TRAVAGLINI, R. V. et al. Isca encapsulada atrativa visando controle microbiano de formigas cortadeiras. **Tekhne e Logos**, v. 8, n. 3, p. 100-111, 2017.

VIJAYKUMAR, K. **Patchouli and India- A great leaf forward**. In: National Seminar of Prospectus and Potentials of Medicinal and Aromatic Crops, held at Bangalore, 18-19 - 106-107, 2004.

VELOZO, S. G. M. **Desenvolvimento de micoinseticidas: uma abordagem multidisciplinar visando o controle biológico do percevejo bronzeado do eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae).** 2018.

ZIMMERMAN, G. **Weitere versuche mit *Metarhizium anisopliae* (Fungi imperfecti, Moniliales) zur Bekämpfung des Gefurchten Dickmaulrusslers.** *Otiorhynchus sulcatus* F., an Topfplanzen im Gewachshaus. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst, v.36, p.55-59, 1984.