



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E
RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA

CRISTIANO ABREU DE SOUZA

BIOATIVIDADE DA CEPA AMAZÔNICA DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* NO
CONTROLE DO PULGÃO QUE ATACA O FEIJÃO-DE-CORDA

PARINTINS
2015

CRISTIANO ABREU DE SOUZA

**BIOATIVIDADE DA CEPA AMAZÔNICA DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* NO
CONTROLE DO PULGÃO QUE ATACA O FEIJÃO-DE-CORDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Universidade do Estado do Amazonas, para a obtenção do título de mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Castro e Silva

Co-Orientador: Prof. Dr. Fabiano Gazzi Taddei

**PARINTINS
2015**

CRISTIANO ABREU DE SOUZA

**BIOATIVIDADE DA CEPA AMAZÔNICA DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* NO
CONTROLE DO PULGÃO QUE ATACA O FEIJÃO-DE-CORDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Universidade do Estado do Amazonas, para a obtenção do título de mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia.

Data da aprovação ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ademir Castro e Silva
Universidade do Estado do Amazonas

Prof. Dr. Wilson Castro Silva
Programa de Mestrado em Biotecnologia

Prof. Dr. Rodolfo Sanches
Universidade Del Pilar- Cuba

**PARINTINS
2015**

Ficha Catalográfica elaborada na Biblioteca CESP-UEA

S719b Souza, Cristiano Abreu de
Bioatividade da cepa amazônica do fungo *Pycnoporus sanguineus*
no controle do pulgão que ataca o feijão-de-corda. / Cristiano Abreu de
Souza. – Manaus: UEA, 2015.
54f. : il color; 30cm.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Castro e Silva
Co-Orientador: Prof. Dr. Fabiano Gazzi Taddei
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos naturais da
Amazônia) – Universidade do Amazonas, 2015.

1. Biotecnologia 2. Fungos Amazônicos 3. Fungos - hortaliças
4. Fungos basidiomicetos I. Silva, Ademir Castro e II Taddei, Fabiano
Gazzi III Título.

CDU – 60: 582.28 (043)

Dedico a meus pais Pedro Paulo de Souza e Rosária Maria Abreu de Souza, por toda dedicação e incentivo que outrora me deram para poder estudar. A minha esposa, Silvia Cristina por toda ajuda e paciência no desenvolvimento do meu trabalho.

*“Quanto melhor é adquirir a sabedoria do que o ouro! E quanto
mais excelente é escolher o entendimento do que a prata”
(PROVÉRBIOS 16:16).*

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus por toda força concedida para realização deste trabalho.

Em segundo lugar, agradeço a todos aqueles que contribuíram de uma forma ou de outra para a realização deste trabalho, em especial:

Universidade do Estado do Amazonas, por meio da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais-MBT, pela oportunidade e espaço concedido para a realização do curso.

Ao professor Dr. Ademir Castro e Silva, por toda ajuda, orientação, confiança e incentivo durante o período de realização do trabalho.

Ao professor Dr. Fabiano Gazzi Taddei pela ótima co-orientação, incentivo, parceria e contribuição para o meu aprendizado.

Ao professor Dr. Cleiton Fantin, por toda ajuda, incentivo e parceria.

A todos os professores do Programa de Biotecnologia e Recursos Naturais, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos colegas de curso, pela amizade, companheirismo e disposição, sempre prontos a ajudar. Em particular aos colegas Jander Tavares, Elerson Matos e Ricardo Katake, pela amizade e parceria durante esta caminhada.

Aos alunos de graduação Juan, Leanderson e Gabrielen pela colaboração e companheirismo nos trabalhos.

Ao CNPq pela bolsa concedida, fundamental para a realização deste trabalho.

A minha família, por todo apoio e motivação em todos os momentos em especial a minha esposa.

Em fim a todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado.

RESUMO

Os afídeos ou pulgões são pequenos insetos fitófagos sugadores, capazes de causar grandes prejuízos a vários tipos de culturas, trazendo perdas de produção e econômica aos agricultores. O aumento da utilização de inseticidas sintéticos para o controle dessa praga tem causado sérios prejuízos ao ambiente. Dessa forma, a utilização de compostos naturais, menos prejudiciais e com potencialidades de exploração por pequenos agricultores, pode ser uma alternativa para o controle dos pulgões. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos extratos de carpóforos de *Pycnopus sanguineus* no controle de *Aphis craccivora* Koch (1854) (pulgão-preto), que ataca *Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis* L (feijão-de-corda), em propriedades de pequenos produtores da região de Parintins-AM. Carpóforos de *P. sanguineus* foram coletados na região periurbana de Parintins (AM) (02° 34' 71" – 56° 47' 96"), secos ao ar livre e triturados em moinho de faca. O extrato bruto do material foi obtido com auxílio de um extrator solvente aquoso e etanólico, evaporados, posteriormente, em evaporador rotativo, então foram preparadas concentrações de 1mg/ml, 5mg/ml e 15mg/ml. Para a solubilização do extrato aquoso foi utilizado somente água destilada; para a solubilização do extrato etanólico foi utilizado primeiramente a solução de Dimetil sulfóxido (DMSO) completando-se a mistura com água destilada até atingir a concentração desejada. Os pulgões foram coletados em plantações de feijão-de-corda em propriedades de pequenos produtores de hortaliças situadas na zona periurbana do município de Parintins/AM. Para isso, estruturas apicais e folhas infestadas pelos insetos foram podadas e, então acondicionadas em caixas térmicas de isopor, nas quais foram transportadas para o laboratório onde foram realizados os testes biológicos. Para a avaliação do percentual de mortalidade e eficiência dos extratos foram utilizados três métodos: 1) Papel embebido em extrato; 2) Pulverização e; 3) Material vegetal embebido em extrato. A pulverização foi o método que apresentou os melhores resultados, com 72% de mortalidade na concentração de 15mg/ml (extrato etanólico) no período de 48 horas. A eficiência do extrato etanólico para este período de tempo chegou a 70,8% (concentração de 15mg/ml). Conclui-se, pelo potencial dos compostos bioativos presentes no carpóforo de *P. sanguineus*, que produtos derivados, serão efetivos no controle de pulgões em hortaliças.

Palavras-chave: *Pycnopus*, Basidiomycetes, fungos amazônicos, pulgões, hortaliças, inseticidas naturais

ABSTRACT

Aphids are small phytophagous insects, sucking, can cause great damage to various crops, bringing production and economic losses to the farmers. The increased use of synthetic insecticides to control this pest, causes serious damage to the environment. Thus, the use of natural compounds, less aggressive to the environment and potential for exploitation by small farmers is an alternative for the control of aphids. In this sense, the objective of this study was to evaluate the effects of extracts fruiting bodies of *Pycnopus sanguineus* in control of *Aphis craccivora* Koch (1854) (black aphid), which attacks *Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis* L in properties of small producers of Parintins-AM region. Fruiting bodies of *P. sanguineus* were collected in the periurban region of Parintins (AM), dried outdoors and ground in a knife mill. Crude extract of this material was obtained using as extractors aqueous and ethanol solvent subsequently evaporated in a rotary evaporator, and prepared concentrations 1mg/ml, 5mg/ml and 15mg/ml. For solubilization of the aqueous extract was used only distilled water; for solubilization of the ethanol extract was first used to dimethyl sulfoxide solution (DMSO) supplementing the mixture with distilled water to the desired concentration. The aphids were collected from bean-to-string plantations of small producers of vegetables properties located in the suburban area of Parintins / AM municipality. Apical structures and leaves infested by insects were pruned, packed in styrofoam coolers, transported to the laboratory for biological tests. Three methods for measuring the percentage of mortality and efficiency of extracts were used: 1) Paper soaked in extract; 2) Spray end; 3) Plant material soaked in extract. The method of spraying showed the best result reaching 72% mortality in the concentration 15mg/ml (ethanol extract) in 48 hours period. The extract efficiency also showed 70,8% to ethanolic extract at a concentration of 15mg/ml. It follows, therefore, the potential of bioactive compounds in presents carpophorus of *P. sanguineus* for aphid control in vegetables.

Keywords: *Pycnopus*, Basidiomycetes, amazonian fungi, aphids, vegetables, natural pesticide

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 - Espécies de pulgões coletados em diversas culturas no estado do Amapá.....	19
---	----

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Percentual de mortalidade para o extrato aquoso de <i>Pycnopus sanguineus</i> no período de 24h.....	38
Tabela 2 - Percentual de mortalidade para o extrato etanólico de <i>Pycnopus sanguineus</i> no período de 24h.....	38
Tabela 3 - Percentual de mortalidade para o extrato aquoso de <i>Pycnopus sanguineus</i> no período de 48h.....	39
Tabela 4 - Percentual de mortalidade para o extrato etanólico de <i>Pycnopus sanguineus</i> no período de 48h.....	39
Tabela 5 - Valores estimados de mortalidade (%) pelo modelo estatístico geométrico ($Mort=16,7039*(Conc)^{0,4865}$) para o extrato aquoso com o método de pulverização no período de 48 h.....	41
Tabela 6 - Valores estimados de mortalidade (%) pelo modelo estatístico linear ($Mort=23,5833+3,2500Conc$) para o extrato etanólico com o método de pulverização no período de 48h.....	42
Tabela 7 - Eficiência dos extratos de <i>P. sanguineus</i> no controle do pulgão em diferentes concentrações no período de 24 h.....	43
Tabela 8 - Eficiência dos extratos de <i>P. sanguineus</i> no controle do pulgão em diferentes concentrações no período de 48 h.....	43

LISTA DE FIGURAS

INTRUDUÇÃO

Figura 1 - *Pycnoporus sanguineus*.....21

CAPÍTULO I

Figura 1 - Coleta e preparação do material fúngico.....33

Figura 2 - Preparação dos extratos.....34

Figura 3 - Regressão geométrica do extrato aquoso de *Pycnoporus sanguineus* com o método de pulverização em 48h..40

Figura 4 - Regressão linear do extrato etanólico de *Pycnoporus sanguineus* com o método de pulverização em 48h.....42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Considerações gerais.....	15
2.2 Biotecnologia.....	15
2.3 Insetos que atacam hortaliças.....	16
2.4 Pulgão: importância e controle químico.....	17
2.5 Fungos basidiomicetos	20
2.6 <i>Pycnopus sanguineus</i>	21
3 OBJETIVOS	24
3.1 Geral.....	24
3.2 Específicos	24
4 REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO I	30
APÊNDICE	52

1 INTRODUÇÃO

Pragas e doenças que atacam animais e plantas dificultam, cada vez mais, a produção de matérias-primas, alimentos e outros produtos, encarecendo e gerando perdas do produto final. Nos setores de produção agrícola, em função destes fatores, faz-se necessário o uso de pesticidas, reconhecidamente, prejudiciais ao meio ambiente (DOMINGUES, 2008). Urge-se, portanto, substituir estes produtos químicos por ferramentas biológicas com a mesma função e menor custo (PEREIRA e de JESUS, 2010).

A utilização de métodos mais eficazes para a produção agrícola tem sido discutida com o objetivo de melhorar a produtividade. Um desses é o controle de doenças e pragas causado pela infestação de insetos. Os quais causam prejuízos de bilhões de dólares anuais, como exemplo, a lagarta *Helicoverpa armigera*, recentemente, detectada no Brasil (ÁVILA *et al.*, 2013), causa danos estimados de 5 bilhões de dólares nas diferentes culturas em que ocorre (LAMMERS e MACLEOD, 2007). Outro exemplo é o bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis*. Circulinídeo de 7mm de comprimento, possui grande capacidade de infestação, podendo acarretar prejuízos de 100% da produção, se as medidas de controle não forem adequadas (PEREIRA e de JESUS, 2010)

Em função da possibilidade do surgimento de insetos resistentes aos produtos químicos e, da exigência cada vez maior do mercado por produtos agrícolas livres de químicos, estudos são realizados visando a obtenção de formas de controle de doenças e pragas. Um dos métodos investigados nos últimos anos é o controle biológico, neste, inimigos naturais (parasitóides, predadores e microrganismos) são introduzidos em culturas impedindo que as populações de insetos-pragas atinjam populações, com número suficiente, para causar danos econômicos (SIMONATO *et al.*, 2014).

Uma das técnicas que, atualmente, têm se destacado no controle de pragas da agricultura é a utilização de ferramentas biotecnológicas. Tecnicamente, o termo biotecnologia representa um conjunto de técnicas que “utilizam sistemas biológicos, organismos vivos ou, seus derivados, para a produção ou modificação de produtos e processos para uso específico” (BRASIL, 2010).

Estudos sobre o potencial dos fungos, para este fim, estão sendo realizados visando viabilizar o uso desses organismos no controle de pragas.

No município de Parintins-AM, os pequenos produtores de hortaliças vêm perdendo, ao longo do tempo, parte significativa de sua produção em função do ataque de insetos e fungos (FIGUEIREDO, 2012). Apesar dos esforços realizados, o prejuízo econômico resultante do parasitismo desses organismos é considerável.

Diante dessa problemática, este estudo tem como objetivo, avaliar o potencial de extratos obtidos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* no controle de *Aphis craccivora* Koch (1854) (pulgão-preto), que ataca o *Vigna unguiculata* ssp. *Sesquipedalis* L (feijão-de-corda), em propriedades de produtores agrícolas da região de Parintins-AM.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações gerais

O uso de substâncias sintéticas na pecuária e, em culturas de espécies vegetais, tem causado preocupação sobre os atuais modelos do modo de produção agropecuário no Brasil, pois a utilização desses compostos ocasionam prejuízos, tanto a saúde do homem, quanto ao ambiente. Neste sentido, é imprescindível pesquisas que viabilizem o surgimento de técnicas e/ou produtos que possam substituir essas substâncias, minimizando seu impacto.

2.2 Biotecnologia

Antes mesmo do conhecimento sobre processos biológicos, a biotecnologia era utilizada na produção de vinhos e pães (BORÉM, 2005). O consumo de alimentos fermentados, descrito em muitas culturas antigas, é a prova de que o homem, mesmo sem conhecimento da biotecnologia, já fazia uso de microrganismos para produzir estes insumos.

O termo “biotecnologia”, utilizado pela primeira vez no século passado para descrever procedimentos de produção de vinhos, pães e derivados lácticos, difere do atual conceito de biotecnologia, na qual as técnicas utilizadas sobrepõem os princípios envolvidos (BORÉM, 2005).

Atualmente, define-se a biotecnologia como um “conjunto de técnicas de manipulação de organismos vivos ou, partes deles, para a produção, modificação e geração de novos produtos e serviços úteis para a sociedade, através da utilização de inúmeras tecnologias” (BORÉM, 2005; SILVEIRA, BORGES e BUAINAIN, 2005; BRASIL, 2010).

O atual conceito de biotecnologia envolve técnicas de manipulação direta do DNA de um organismo vivo de modo a alterar, precisamente, determinadas características ou introduzir novas. Em sentido mais restrito, a biotecnologia está associada às técnicas de biologia celular e molecular. A técnica de transferência e modificação direta, conhecida como engenharia genética ou tecnologia do DNA recombinante e a genômica, ficaram conhecidas como “biotecnologia moderna” em

contraposição a biotecnologia tradicional ou clássica que manipulam seres vivos sem a utilização de seus genes (SILVEIRA, BORGES e BUAINAIN, 2005).

O uso de ferramentas biotecnológicas para o melhoramento da produção de animais e plantas, tem se tornado cada vez mais comum. A alteração genética, como por exemplo, a inserção de genes de organismos diferentes, é uma das técnicas mais utilizadas no desenvolvimento de plantas, com o objetivo de incorporar aos seus genomas, características desejáveis como: tolerância ou resistência às pragas, a patógenos e a estresses abióticos como alterações na temperatura (BRASIL, 2010).

Outra forma de utilização da biotecnologia está relacionada com o uso de substâncias produzidas, naturalmente, por organismos como: fungos, plantas e bactérias. Estas substâncias são conhecidas como “metabólitos secundários” ou simplesmente “metabólitos”, e por sua utilização em diversos campos na indústria agricultura, saúde humana e animal, são, constantemente, abordados em estudos biotecnológicos. No caso dos fungos, a penicilina, tetraciclina e a cefalosporina (BRAUN, 2008), são descobertas biotecnológicas, amplamente, utilizadas como antibióticos em humanos e outros animais.

O controle biológico, fenômeno natural que consiste na regulação do número de plantas e animais por inimigos naturais, que se constituem em agentes de mortalidade biótica (PEREIRA e de JESUS, 2010) é outra opção propiciada pela biotecnologia.

O aumento da produtividade, resistência a doenças e pragas e, a qualidade nutricional dos alimentos, são características, frequentemente, consideradas em programas de melhoramento (BORÉM, 2005). Entretanto, a questão do uso e preservação do ambiente é um fator relevante, que deve ser abordado com cautela, pois a utilização de técnicas biotecnológicas, apesar dos benefícios, pode ocasionar problemas se não forem utilizadas ou desenvolvidas de maneira correta e com responsabilidade.

2.3 Insetos que atacam hortaliças

Inseto é o nome popular para todos os Hexapoda, que constitui o grupo mais diversificado de organismos, representando cerca de 60% de todas as espécies conhecidas (RAFAEL *et. al.*, 2012).

Os insetos povoam quase todos os tipos de ambientes e, podem alimentar-se de quase tudo que nele existe, sendo abundantes tanto em ecossistemas naturais, quanto em ecossistemas antrópicos.

Muitas espécies de insetos vivem associadas à maioria das diferentes culturas desenvolvidas pelo homem, podendo ser prejudiciais ou não. Quando causam prejuízos, estas espécies passam a ser chamadas de pragas. Segundo Imenes e Ide (2002), praga refere-se a ação de insetos que atacam vegetais, a partir do momento em que atingem populações capazes de causar danos econômicos. O ataque pode ocorrer nas diferentes partes do vegetal, causando queda na produção, no valor comercial e pode até ocasionar a morte da planta.

Em hortaliças, são consideradas pragas importantes os insetos: formigas cortadeiras, pulgões, moscas-brancas, cochonilhas, percevejos, tripés, cigarrinhas, lagartas, vaquinhas, mosca-minadora, grilos e paquinhas (MICHEREFF FILHO *et al.*, 2013).

Além dos insetos, podem ser considerados pragas: ácaros, lesmas e caracóis. Há espécies de insetos e ácaros que sempre se comportam como pragas, ou seja, uma vez feito o plantio esses artrópodes aparecem e causam danos na lavoura (ZUCCHI e SILVEIRA NETO, 2012).

De acordo com Pereira e de Jesus (2010), as pragas agrícolas farão parte do cotidiano do ser humano enquanto este produzir alimentos, fibras e matérias primas para as suas necessidades alimentares e econômicas.

2.4 Pulgão: importância e controle químico

Pulgões, também conhecidos como afídeos, são pequenos insetos sugadores que são classificados na ordem Hemiptera, família Aphididae, que contém cerca de 4.000 espécies, presentes em todo o mundo (SILVA, MICHELOTTO e JORDÃO, 2004). No Brasil, segundo WOLFF (2012), existem 107 espécies registradas para a família. São caracterizados por apresentar um par de sínculos abdominais e antenas filiformes, vivem agregados, apresentam polimorfismo (formas ápteras e aladas) e podem reproduzir-se tanto sexuada como assexuadamente (IMENES e IDE, 2002; SILVA, MICHELOTTO e JORDÃO, 2004).

Devido à quantidade de espécies existentes e por serem, exclusivamente, fitófagos, os pulgões alimentam-se de uma infinidade de vegetais, tanto selvagens

quanto cultivados, podendo inclusive, parasitar plantas tóxicas, como *Aphis nerii* que parasita a espírradeira (*Nerium oleander*) e a erva invasora (*Asclepias curassavica*). A espécie *Brevicoryne brassicae* é capaz de desativar a toxina sinigrina, presente nas crucíferas (couve, repolho, etc.) (WATANABE, 2001). Dessa forma, a família é considerada de grande interesse, pelos danos diretos e indiretos causados na agricultura (PEÑA – MARTÍNEZ, 1992 apud SILVA, MICHELOTTO e JORDÃO, 2004).

Os pulgões atuam sugando, continuamente, a seiva elaborada das plantas, causando amarelecimento, enrugamento, definhamento, deformação e até morte da planta por enfraquecimento (IMENES e IDE, 2002). Esse tipo de ataque caracteriza o dano direto. Os danos indiretos são caracterizados, principalmente, pela capacidade dos afídeos em transmitir inúmeras viroses fitopatogênicas. Além disso, expelem uma substância açucarada que, depositada sobre as folhas, propicia a ocorrência de um fungo preto (fumagina), que diminui a área de respiração e dificulta a fotossíntese da planta (WATANABE e MELO, 2006). De acordo com Barros (2012), em condições de estiagem, o acúmulo da substância açucarada, produzida pelo pulgão-do-milho (*Rhopalosiphum maidis*), causa falha na polinização e fecundação, conseqüentemente, reduzindo a formação dos grãos, além de ser um potencial transmissor do vírus do mosaico do milho.

Na cultura de alface, pulgões e tripés estão entre as principais pragas, dentre as quais destaca-se *Dactynotus sonchi*, que pode atacar várias espécies da cultura, sendo importantes não apenas pelos danos diretos mas, principalmente, pelo potencial vetor de viroses nesse tipo de cultura (SANTOS *et al.*, 2010).

Na cultura de trigo, o pulgão *Rhopalosiphum padi* L, tem infestado lavouras com frequência, causando os mesmos efeitos acima mencionados (ROSA-GOMES, SALVADORI e SCHONS, 2008).

Em estudo realizado por Silva, Michelotto e Jordão, 2004, foram identificadas oito espécies de pulgões em dez culturas agrícolas no Estado do Amapá (tabela 1).

Tabela 1: Espécies de pulgões coletados em diversas culturas no estado do Amapá.

Espécies	Cultura	
	Nome vulgar	Nome científico
<i>Aphis gossypii</i>	Pimenta-de-cheiro	<i>Capsicum</i> sp. <i>Annona muricata</i>
	Gravioleira	<i>Malphigia glabra</i> e <i>M. puniceifolia</i>
	Aceroleira	<i>Malphigia glabra</i> e <i>M. puniceifolia</i>
<i>Aphis spiraecola</i>	Aceroleira	<i>Brassica oleraceae</i> var. <i>acephala</i>
<i>Brevicoryne brassicae</i>	Couve	<i>Cocus nucifera</i>
<i>Cerataphis brasiliensis</i>	Coqueiro	<i>Euterpe oleracea</i>
	Açaizeiro	
<i>Pentalonia nigronervosa</i>	Bananeira	<i>Musa</i> sp.
<i>Rhopalosiphum padi</i>	Milho	<i>Zea mays</i>
<i>Toxoptera aurantii</i>	Goiabeira	<i>Psidium guajava</i>
<i>Toxoptera citricida</i>	Citrus	<i>Citrus</i> spp.

Fonte: (Silva, Michelotto e Jordão, 2004)

Das espécies identificadas, *Cerataphis brasiliensis*, *Rhopalosiphum padi* e *Toxoptera citricida* foram as que mais se destacaram, por serem de ocorrência generalizada e atacarem plantas de maior interesse econômico na região (SILVA, MICHELOTTO e JORDÃO, 2004).

Estudos como esse, evidenciam que espécies de pulgões podem atacar uma infinidade de culturas, causando perdas e aumentando gastos na produção. Neste sentido, apesar dos avanços no desenvolvimento de novas técnicas de manejo e práticas sustentáveis do modo de produção, de uso do solo e da água, a utilização de inseticidas sintéticos para o controle das chamadas “pragas agrícolas” (BRAGA LOVATTO *et al.*, 2012), ainda é o mais comum, devido a sua eficácia.

De modo geral, uma infinidade de agrotóxicos (inseticidas, herbicidas e fungicidas) são utilizados para controlar as chamadas pragas agrícolas, sendo o Brasil, considerado como um dos maiores consumidores de agrotóxicos (BRAGA LOVATTO *et al.*, 2012).

Segundo Pelaez *et al.* (2010), no período de 2000 a 2008, as vendas mundiais de agrotóxicos aumentaram em 45%, no Brasil esse aumento foi de 176%.

Em 2009 as vendas no Brasil movimentaram mais de U\$\$ 6,6 bilhões (MENTEN *etal*, 2011).

Em relação ao controle químico dos pulgões, os inseticidas que apresentam melhor eficácia são os neonicotinóides, sendo que também são utilizados grupos como piretrióides, carbamatos e organofosforados. O uso intensivo de defensivos na agricultura tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais (FIGUEIREDO, 2012)

Diante desses fatos, os estilos de agriculturas de base ecológica vêm se estabelecendo como alternativas na produção de alimentos mais saudáveis e livres de químicos (BRAGA LOVATTO *et al*, 2012).

Para Michereff Filho *et al*, (2013), a produção agrícola de base ecológica tornou-se necessária para suprir a necessidade crescente de alimentos livres de resíduos tóxicos, respeitando os preceitos da sustentabilidade, conservação do meio ambiente e bem estar do ser humano.

2.5 Fungos basidiomicetos

Os fungos são seres aclorofilados, eucariotos, heterotróficos, unicelulares ou multicelulares, apresentam reprodução sexuada e/ou assexuada por esporos, parede celular, e o glicogênio é a sua principal reserva de energia (SILVA e COELHO, 2006; GIMENES, 2010).

Dentre as divisões do reino Fungi, o filo Basidiomycetes engloba o grupo de fungos basidiomicetos, organismos fúngicos mais evoluídos ou verdadeiros, apresentando hifas septadas e, especialmente, estruturas reprodutivas denominadas basídios, característica que dá nome ao grupo (LOGUERCIO-LEITE, 2004; VIEIRA *et. al*, 2006; CARVALHO, 2007; FIGUEIREDO, 2012).

Os basidiomicetos mais conhecidos são aqueles que apresentam corpos de frutificação macroscópicos (GIMENES, 2010), denominados de basidiocarpo ou basidioma (VIEIRA *et. al.*, 2006; FIGUEIREDO, 2012). Devido a seu tamanho, essas estruturas podem ser facilmente visualizadas, sendo denominadas, popularmente, de cogumelos e “orelhas-de-pau. Na primeira estrutura, o basidiocarpo apresenta haste ou estipe que segura o píleo ou “chapéu” como também é chamado, na segunda o basidiocarpo não apresenta haste ou estipe, respectivamente.

Além desses, outros fungos menos conhecidos são agrupados nesse filo, tais como: fungos gelatinosos, gasteromicetos, ferrugens e carvões, e ainda espécies unicelulares (SILVA e COELHO, 2006; GIMENES, 2010).

Dentre os organismos biodegradadores, os mais efetivos na biodegradação da madeira na natureza são os fungos de podridão branca (*White-rot fungi*) que atuam sobre todos os componentes da madeira, e os de podridão parda (*brown-rot fungi*) que degradam, principalmente, polissacarídeos, desses, a maioria são basidiomicetos (FERRAZ, 2004).

Em função do grande potencial biotecnológico, os fungos basidiomicetos passaram a ser alvo de inúmeras pesquisas científicas e industriais na busca de novas substâncias que pudessem ser úteis, principalmente, em relação a saúde humana.

Atualmente, com o desenvolvimento da biotecnologia, inúmeras pesquisas apontam a utilização de novos compostos extraídos, ou até os basidiomicetos em si, em diversos setores como: alimentício, ingeridos *in natura* ou secos; na saúde, com sua utilização na fabricação de novos medicamentos para humanos e animais; na agricultura, utilizados como veneno contra pragas e doenças; industriais, no tratamento de efluentes e produção de papel; biorremediação, aplicados na restauração de áreas contaminadas com organoclorados (VIEIRA *et. al*, 2006; CARVALHO, 2007).

2.6 *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr.



Figura 1: *Pycnoporus sanguineus*

Posição taxonômica

Reino.....	Fungi
Divisão (Filo).....	Basidiomycota
Classe.....	Basidiomycetes
Subclasse.....	Holobasidiomycetidaea
Ordem.....	Aphylophorales
Família.....	Poliporaceae
Gênero.....	<i>Pycnopus</i>
Espécie.....	<i>Pycnopus sanguineus</i>

A utilização de produtos químicos industriais usados no controle de pragas ocasiona o aparecimento de formas resistentes a esses produtos, tornando inviável a sua utilização. Além disso, são potenciais contaminantes do meio ambiente, sendo prejudiciais, inclusive, para o homem (DOMINGUES, 2008).

Pesquisas com basidiomicetos (TOILLIER *et al.*, 2010; MAMPRIM *et al.*, 2013; FIGUEIREDO, 2014) vêm sendo desenvolvidas com o objetivo, de controlar pragas e doenças que acometem as plantações e visando obter formas de minimizar impactos ambientais com a utilização de produtos menos agressivos ao meio ambiente, como os naturais.

Um dos fungos que tem sido testado é o *Pycnopus sanguineus*. Estudos realizados com esta espécie indicam sua aplicabilidade em diversos setores, como: indústria, agricultura e saúde humana. Compostos isolados da espécie como a cinabarina, ácido cinabarínico e a tramesanguina (MARQUES, 2001), tem demonstrado possuírem atividades antibacterianas importantes para a saúde humana.

Estudo sobre a atividade antiparasitária e antiviral da cinabarina e esteróis isolados de *P. sanguineus*, mostraram, *in vitro*, que o esterol (5,8-epidoxi- 5 α ,8 α -ergost-6,22-dien-3 β ol) foi 4 vezes mais potente que o Rogan® em formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, apresentando também atividade nos tripomastigotas sanguíneos e, elevada atividade em formas promastigotas de *Leishmania* spp. (MARQUES, 2001). Segundo esse mesmo autor, a cinabarina causou uma redução de até 4 vezes na infecção de células N2A pelo vírus rábico, sem causar efeitos citopáticos significativos.

Vanderlinde e Onofre (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos obtidos de *P. sanguineus*, em dois sistemas de solventes (água e acetato de etila), sobre bactérias, e atestaram que o extrato obtido com acetato de etila foi mais eficiente, inibindo o crescimento de três das cinco espécies testadas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo mais eficiente para *S. aureus*. Entretanto, os dois extratos não tiveram efeito sobre *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Wille (2007) estudou o potencial de biopolpação de *P. sanguineus* no tratamento prévio de cavacos de duas espécies vegetais, em comparação com *Ceriporiopsis subvermispora*, amplamente, utilizado neste processo, e constatou que a velocidade de crescimento de *P. sanguineus* foi superior, demonstrando maior potencial aos agentes de tratamento, atualmente, utilizados.

Müller (2008) desenvolveu biossensores a base de lacases de *P. sanguineus* para análise ambiental de compostos fenólicos e, concluiu que os biossensores formados com esta enzima, apresentaram bom desempenho na determinação destes compostos, especialmente, quando utilizado o extrato enzimático com elevada atividade.

No trabalho realizado por Toillier *et al.*, (2010), extratos de basidiocarpos de *P. sanguineus* reduziram em média 91% do crescimento bacteriano de *X. axonopodis* PV. *phaseoli*, que ataca o feijoeiro, quando comparado, estatisticamente, ao antibiótico utilizado no controle. Figueiredo (2012), estudando o potencial dos extratos aquosos e hidroalcoólico de *P. sanguineus* e *L. crinitus* observou, *in vitro*, a inibição da germinação de conídios e escleródios do fitopatógeno *Fusarium* Sp atestando que os melhores resultados foram para *P. sanguineus*.

Mamprim *et al.*, (2013) avaliou a compatibilidade e os efeitos de diversos defensivos naturais, extratos vegetais e de *P. sanguineus* sobre o fungo *Metarhizium anisopliae*, e constatou que o extrato aquoso de *P. sanguineus* a 10% foi significativo, reduzindo entre 24 e 39% a produção de conídios, assim como os extratos vegetais de capim cidreira, arruda, canela e alecrim.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar efeito dos extratos obtidos a partir de carpóforos de *Pycnopus sanguineus* no controle de pulgões que atacam hortaliças de pequenos produtores da Região do Baixo Amazonas.

3.2 Específicos

- Obter extratos de carpóforos de *Pycnopus sanguineus* amazônicos em diferentes solventes;
- Avaliar o potencial dos extratos obtidos na mobilidade/mortalidade dos insetos capturados;
- Avaliar o efeito dos extratos através de diferentes métodos: papel embebido, pulverização nos insetos e material vegetal embebido;

4 REFERÊNCIAS

ÁVILA, C. J; VIVAN, L. M; TOMQUELSKI, G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. **Circular técnica 23**. Dourados-MS. 2013.

BARROS, R. Pragas do milho. **Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/1012**. Disponível em <[HTTP://www.fundacaoms.org.br/uploads/publicacoes/14%20-%20pragas%20do%20milho_274738388.pdf](http://www.fundacaoms.org.br/uploads/publicacoes/14%20-%20pragas%20do%20milho_274738388.pdf)>. Acesso em 13 nov. 2013, 14:13:23.

BORÉM, A. A história da biotecnologia. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento** n.34, pp10-12. 2005.

BRAGA LOVATTO, P; SCHIEDECK, G; MELLO GARCIA, F. R. A interação co-evolutiva entre insetos e plantas como estratégia ao manejo agroecológico em agroecossistemas sustentáveis. **Interciencia**, Caracas, Venezuela, vol. 37, n. 9, 2012, pp. 657-663. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo): **BOLETIM TÉCNICO: Biotecnologia Agropecuária**. Brasília-DF. 2010.

BRAUN, G. H. **Otimização das condições de cultivo do fungo endofítico *Papulaspora immersa* para produção de substâncias bioativas**. 2008. 60 f. Faculdade de Ciências Farmacêuticas Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

CARVALHO, M. P. **Avaliação da atividade antimicrobiana dos basidiomicetos *Lentinula edodes*, *Lentinus crinitus*, *Amauroderma sp.* e *Pycnoporus sanguineus***. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e Ambiente, na área de microbiologia industrial. Universidade do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Porto Alegre, Rio grande do Sul, Brasil, 2007.

DOMINGUES, R. J. **Potencial fungicida “in vitro” de extratos de plantas e de basidiomicetos sobre *Alternaria solani* (Ell. & Martin) Jones & Grout, *Colletotrichum acutatum* Simmonds e *Sclerotium rolfsii* Sacc.** São Paulo. 2008.70 p.il

FERRAZ, A. L. Fungos decompositores de materiais lignocelulósicos. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Org). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia.** Caxias do Sul: EducS, 2004. p. 215-240.

FIGUEIREDO, A. S. **Avaliação “in vitro” dos extratos de basidiomicetos frente à de fitopatógenos prejudiciais à produção de hortaliças de pequenos produtores da região do Baixo Amazonas (AM).** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós – Graduação em Biotecnologia. Universidade do Estado do Amazonas. Manaus,105pp. 2012.

FIGUEIREDO, A; CASTRO E SILVA, A. Atividade “ in vitro” de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. **Acta Amazônica**, v. 44(1). 2014.

GIMENES, L. J. **Fungos basidiomicetos: Técnicas de coleta, isolamentos e subsídios para processos biotecnológicos.** Curso de capacitação de Monitores e Educadores. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica-IBt, 2010.

IMENES, S. L. IDE, S. Principais grupos de insetos pragas em plantas de interesse econômico. Centro de pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal. Instituto Biológico São Paulo. **Biológico, São Paulo**, v.64, n. 2, p. 235-238. 2002.

LAMMERS, J. W.; MACLEOD, A. **Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808).** [S.l.: s.n.], 2007. Disponível em: <<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pdf>> acessado em 04 de novembro de 2014.

LUGUERCIO-LEITE, C. Taxonomia dos fungos. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Org.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p. 47-88.

MAMPRIM, A. P.; ALVES, L. F. A.; PNTTO, G. S.; FORMENTINI, M. A.; MARTINS. C. C.; BONINI, A. K. Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n.4 p. 1451-1466. 2013.

MARQUES, C. J. S. **Atividade antiparasitária e antiviral de *Pycnoporus sanguineus* (L.:Fr.) Murr.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós- Graduação em biotecnologia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 73 pp. 2001.

MENTEN, J; SAMPAIO, I. A.; MOREIRA, H.; FLÔRES, D; MENTEM, M (2011). O setor de defensivos agrícolas no Brasil. [www. Sindag.com.br/upload/ O Setor de DefensivosagricolasnoBrasil.doc](http://www.Sindag.com.br/upload/O_Setor_de_DefensivosagricolasnoBrasil.doc)(Cons. 05/2011).

MICHEREFF FILHO, M.; RESENDE, F. V.; VIDAL, M. C.; GUIMARÃES, J.A.; MOURA, A.P.; SILVA, P. S.; REYES, C. P. Manejo de pragas em hortaliças durante a transição agroecológica. **Circular Técnica 119**. Brasília- DF, 2013.

MÜLLER. L. **Biossensor a base de lacase (*Pycnoporus sanguineus*) para análise ambiental de compostos fenólicos**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós- Graduação em Engenharia do Meio Ambiente. Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 86 pp. 2008.

PELÁEZ, V; MELO, M; HOFMANN, R; HAMERSCHIMIDT, P; MEDEIROS, G. MATSUSHITA, A; TEODOROVICZ,T; MOREIRA, F; WELINSKI, J; HERMIDA, C. **Monitoramento do mercado de agrotóxicos**. Departamento de Economia. UFPR. 2010.

PEREIRA, A.I.A. de JESUS, F.G..INSETOS: Ferramenta Biológica de controle de pragas no campo: **II SEMAGRO. INSTITUTO FEDERAL GOIANO-** Campus Urutaí. 175 p. 2010.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R. Prefácio. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C.J.B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R.(Editores). **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. Ribeirão Preto. Holos, Editora, 2012.

ROSA-GOMES, M. F.; SALVADORI, J. R.; SCHONS, J. Dano de *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) no trigo em função da duração e da densidade de infestação. **Neotropical Entomology** **37** (5): 577-581. 2008.

SANTOS, S. S.; SANTOS, H. S.; FREITAS FILHO, A. M.; MARAUS, P. F. Eficiência do inseticida Warran® (Imidacloprido) no controle de pulgão (*Dactynotus sonchi*) na cultura da alface. **Horticultura Brasileira** **28**: S653-S657.2010.

SILVA, R. A.; MICHELOTTO, M. D.; JORDÃO, A. L. Levantamento preliminar de pulgões no Estado do Amapá. **Circular técnica** **32**. Macapá- AP. 2004.

SILVA, R. R; COELHO, G. D. **Fungos**: Principais grupos e aplicações biotecnológicas. Curso de capacitação de Monitores e Educadores. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica- IBt, São Paulo, 2006.

SILVEIRA, J. M. F. J.; BORGES, I. C.; BUAINAIN, A. M.. Biotecnologia e Agricultura: da ciência e tecnologia aos impactos da inovação. **São Paulo em Perspectiva**, v. 19, n. 2, p. 101-114. 2005.

SIMONATO, J; GRIGOLLI, J. F. J; OLIVEIRA, H. N. Controle biológico de insetos-praga na soja. **Tecnologia e Produção**: Soja 2013/2014.

TOILLIER, S. L.; IURKIV, L.; MEINERZ, C.C.; BALDO, M.; VIECELLI, C. A.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Controle de crestamento

bacteriano comum (*Xantomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) e alteração bioquímicas em feijoeiro induzidas por *Pycnopus sanguineus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 99-110. 2010.

VANDERLINDE, D. G.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo *Pycnopus sanguineus* (Linnaeus: Fries) Murrill. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 1, p. 11-16. 2010.

VIEIRA, I. M.; ROCHA, M. H.; CUNHA, E. B.; KADOWAKI, M. K.; OSAKU, C. A. Basidiomicetos da cidade de Cascavel – Oeste do Paraná – e suas aplicações em biotecnologia. **Estud. Biol.**, v. 28, n. 65, p. 21-31, 2006.

WATANABE, M. A. **Pragas**: quem é esse pulgão. Circular HF. 2001.

WATANABE, M. A.; MELO, L. A. S. Controle biológico de pragas de hortaliças. Embrapa: meio ambiente. Jaguariúna, 2006.

WILLE, C. N. **Potencial do fungo *Pycnopus sanguineus* na biopolpação de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mearnsii***. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas)- Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 56f. 2007.

WOLFF, V. R. S. HEMIPTERA Linnaeus, 1758: SUBORDEM STERNORRHYNCHA Amyot & Serville, 1843. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R.(Editores). **Insetos do Brasil**: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto. Holos, Editora, 2012.

ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA NETO, S. Entomologia agrícola. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R.(Editores). **Insetos do Brasil**: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto. Holos, Editora, 2012.

CAPÍTULO I

BIOATIVIDADE DO FUNGO *Pycnopus sanguineus* NO CONTROLE DE *Aphis craccivora* Kock (1854) (Pulgão-preto)

Resumo

Dentre os insetos que atacam hortaliças, os pulgões são considerados pragas importantes. Neste estudo, serão avaliados os efeitos dos extratos obtidos a partir do carpóforo de *Pycnopus sanguineus* no controle de *Aphis craccivora* Kock (1854), espécie que parasita o feijão-de-corda e, que causa grandes prejuízos aos agricultores do município de Parintins (AM). Para isso, foram utilizados os métodos de embebição em papel filtro e, em estruturas apicais (folhas e brotos jovens) de feijão não infestados e, o método de pulverização para aplicação das diferentes concentrações do extrato aquoso e etanólico. Os métodos foram avaliados segundo o percentual de mortalidade e eficiência nos períodos de 24h e 48h. A melhor atividade inseticida foi obtida com extrato etanólico, com a utilização da pulverização, que obteve 72% de mortalidade em 48h (concentração de 15mg/ml). O extrato etanólico, aplicado pelo método da pulverização, também apresentou a melhor eficiência dos tratamentos, com percentual de 49,5% de mortalidade (concentração de 15mg/ml) no período de 24 horas e, de 70,8% em 48 horas de aplicação. Conclui-se, que o extrato etanólico de *P. sanguineus* possui atividade inseticida sobre *Aphis craccivora* (pulgão-preto-do-feijoeiro).

Palavras chave: *Pycnopus*, *Aphis craccivora*, Basidiomiceto, bioatividade fúngica, combate a pulgão.

INTRODUÇÃO

Pragas e doenças que atacam animais e plantas tornam cada vez mais difícil a produção de matérias-primas, alimentos e outros produtos, devido, principalmente, à capacidade desses organismos em causar sérios prejuízos na produção, ocasionando a utilização indiscriminada de pesticidas sintéticos para o seu controle, assim como, a utilização de tecnologias que encarecem o modo de produção (SOUZA *et al.*,2014).

Dentre os organismos que causam problemas na agricultura, os insetos são apontados como os principais responsáveis pelas perdas econômicas dos

produtores. Estes animais podem causar danos por seu parasitismo, retirando dos vegetais, compostos vitais para o seu desenvolvimento e, crescimento ideal para a agricultura. Soma-se a este fato, a existência de muitas espécies de insetos potenciais vetores de fitopatógenos (MARIANO *et al.*, 2007).

Os Hexápodos causam no mundo prejuízos de bilhões de dólares anuais. A lagarta *Helicoverpa armigera*, recentemente, detectada no Brasil (ÁVILA *et al.*, 2013), causa danos estimados a 5 bilhões de dólares anuais nas diferentes culturas em que é encontrada (LAMMERS e MACLEOD, 2007).

Dentre os insetos que parasitam hortaliças, os pulgões são considerados um dos mais relevantes (MICHEREFF FILHO *et al.*, 2013). Conhecidos como afídeos, são pequenos sugadores que pertencem à ordem Hemiptera, família Aphididae, que contém, aproximadamente, 4.000 espécies presentes em todo o mundo (SILVA, MICHELOTTO e JORDÃO, 2004). No Brasil, segundo WOLFF (2012), existem 107 espécies identificadas nesta família.

Os pulgões preferem as zonas de crescimento do vegetal, como brotações, folhas novas e botões florais, onde atuam sugando, continuamente, a seiva elaborada, causando amarelecimento, enrugamento, deformação e até morte por enfraquecimento generalizado (IMENES e IDE, 2002; WOLFF, 2012). Segundo BARROS (2012), em condições de estiagem, o acúmulo da substância açucarada, produzida pelo pulgão-do-milho (*Rhopalosiphum maidis*), depositada sobre a espiga causa falha na polinização e fecundação e, conseqüentemente, prejuízo na formação dos grãos.

No município de Parintins-AM, os produtores de hortaliças vêm perdendo, ao longo do tempo, em função do ataque de insetos e fungos, parte significativa de sua produção (FIGUEIREDO, 2012). Apesar dos esforços mantidos pelos produtores para sustentar a produtividade, a cada ano inúmeros são os prejuízos causados por estes organismos.

Entre as espécies que trazem prejuízos aos agricultores, encontra-se o pulgão-preto *Aphis craccivora* Koch (1854) (Hemiptera: Aphididae), que parasita culturas de *Vigna unguiculata* ssp. *Sesquipedalis* L (feijão-de-corda). O feijão-de-corda, muito apreciado na culinária local, seu consumo é bastante expressivo na região norte, principalmente porque substitui a vagem em vários pratos (SILVA, 2011).

Espécies de pulgões podem atacar uma infinidade de culturas, causando perdas e aumentando gastos na produção. Apesar dos avanços no desenvolvimento de novas técnicas de manejo e práticas sustentáveis do modo de produção, a utilização de inseticidas sintéticos para o controle das chamadas “pragas agrícolas” (BRAGA LOVATTO *et al.*, 2012), ainda é o mais comum, devido a sua eficácia.

No município de Parintins/AM, poucos são os horticultores que não utiliza nenhum tipo de agrotóxico, isso faz com que na maioria das vezes, as perdas nas plantações sejam totais. Por outro lado, muitos vêm utilizando com frequência certos tipos de agrotóxicos, entre os quais: piretróide, alfaciano-3-fenoxibenzil-2,2-dimetil-3-2,2 diclorovinil-ciclopropanocarboxilato (cipermetrina) e (Barrage®), que é o principal produto utilizado.

O uso intensivo de defensivos na agricultura tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e de animais (FIGUEIREDO, 2012), fato que pode estar ocorrendo também no município de Parintins/AM, principalmente, pela proximidade com os rios e florestas.

Embora os agrotóxicos ainda sejam, em muitos casos, a principal forma de controle das pragas agrícolas, a busca por métodos alternativos tem aumentado cada vez mais. Segundo BRAGA LOVATTO *et al.* (2012) os estilos de agriculturas de base ecológica vêm se estabelecendo como alternativas na produção de alimentos mais saudáveis e livres de químicos.

De acordo com Figueiredo (2012), a utilização de extratos de basidiomicetos nativos da Amazônia, com propriedades antifúngicas, destaca-se como uma alternativa para a substituição de fungicidas sintéticos.

Estudos sobre o potencial destes fungos vêm sendo realizados para viabilizar seu uso também no controle de insetos. Ressalta-se que, a biodiversidade fúngica da Amazônia, apesar da sua grandeza, pouco tem sido explorada nesse sentido. Dentre os basidiomicetos, *Pycnoporus sanguineus*, conhecido, popularmente, na região como orelha-de-pau-vermelha, têm demonstrado sua aplicabilidade em diversos setores como: indústria, agricultura e saúde humana. Compostos isolados deste fungo como a cinabarina, ácido cinabarínico e a tramesanguina têm demonstrado atividades antibacterianas importantes para a saúde humana (MARQUES, 2001).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos dos extratos obtidos a partir de carpóforos de *Pycnoporus sanguineus* no controle de *Aphis craccivora* Koch (1854) (pulgão-preto) que ataca o *Vigna unguiculata* ssp. *Sesquipedalis* L (feijão-de-corda), em propriedades de pequenos produtores da região de Parintins-AM.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparação do material fúngico

Os carpóforos de fungo *Pycnoporus sanguineus* foram coletados na zona periurbana do município de Parintins (02°34'71" – 56°47'96"), nos meses de agosto a novembro de 2013, período que corresponde a estação com menor pluviosidade na região amazônica. O material coletado foi armazenado em sacos de papel e transportados ao laboratório para assepsia, secagem e trituração. Os carpóforos foram lavados, rapidamente, durante 20 segundos em água corrente, para evitar perdas das propriedades biológicas. A secagem dos mesmos foi realizada ao sol em temperatura de 27° ($\pm 3^{\circ}\text{C}$), utilizando para isso, mesas revestidas com chapas de alumínio. A trituração foi realizada em moinho de facas. Porções de 50g de triturado foram pesadas, acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em armários fechados por um período de três dias, após o qual, foram preparados os extratos.



Figura 1: Coleta e preparação do material fúngico. A) Coleta dos fungos; B) Secagem dos carpóforos

Amostras-testemunha de carpóforos foram enviadas para depósito na coleção de Fungos de Madeiras do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus - AM.

Preparações dos extratos

Para preparação dos extratos, foram utilizados dois solventes extratores (água e etanol) com diferentes graus de polaridade, visando a retirada dos componentes bioativos dos carpóforos. A extração foi do tipo a frio. Para cada porção de 50g de material fúngico triturado, foram utilizados 800 ml de solvente extrator, misturado a essa porção. Essa mistura foi deixada em recipiente âmbar, agitando-se, manualmente, o frasco a cada 24 horas.

Após 72h, foi realizada a filtração dessa mistura em papel filtro da marca INLAB nº 40 (6,0 μm), o filtrado obtido foi concentrado em evaporador rotativo a pressão reduzida, para evitar a perda de componentes ativos que podem se degradar em altas temperaturas, considerando no processo, o ponto de ebulição de cada solvente (etanol=78,5°C, água= 100°C). Em seguida, o material concentrado em evaporador rotativo, foi levado à câmara de exaustão para total eliminação do solvente. Os rendimentos foram pesados em porções de 1g, etiquetados e armazenados em refrigerador a temperatura de 4°C, até a preparação das concentrações.



Figura 2: Preparação dos extratos. A) Recipientes âmbar contendo material triturado e solvente; B) Filtração do material.

Solubilização dos extratos

Os extratos: aquoso e alcoólico foram preparados nas concentrações 1mg/ml; 5mg/ml e 15mg/ml. A solubilização do extrato aquoso foi realizada diretamente em água destilada, de acordo com cada concentração a ser utilizada. Para a solubilização do extrato alcoólico, foi utilizado, inicialmente, solução de Dimetil

Sulfóxido (DMSO), na proporção de 100µm/100mg de extrato bruto seco, completando-se esta proporção com água destilada até atingir a concentração desejada. Devido à diferença de polaridade, o extrato alcoólico não se solubiliza totalmente em água, e requer a utilização de DMSO.

Coletas e captura dos insetos

Os pulgões foram coletados em plantações de feijão-de-corda em propriedades de pequenos produtores de hortaliças situadas na zona periurbana do município de Parintins/AM (02°34'71" – 56°47'96"). Estruturas apicais e folhas infestadas pelos insetos foram podadas e então acondicionadas em caixas de térmicas de isopor, nas quais foram transportadas para o laboratório, onde foram realizados os testes biológicos.

Delineamento experimental

O delineamento para avaliação do efeito inseticida dos extratos dos carpóforos de *P. sanguineus* foi inteiramente casualizado com três tratamentos, dez repetições e um grupo controle (água destilada), para o extrato aquoso. Para o extrato etanólico, o delineamento foi acrescido de um grupo controle com DMSO, devido a sua utilização na solubilização deste extrato.

Este delineamento foi utilizado nos três experimentos, como descritos a seguir:

Experimento 1: (Papel embebido) – neste experimento, um total de 400 pulgões adultos foram distribuídos, em número de dez, em placas de Petri de diâmetro 90x15mm contendo papel filtro embebido com 1 ml de suspensão de cada extrato obtido (aquoso ou alcoólico), na concentração utilizada em cada tratamento. Em seguida, estruturas (folhas e brotos novos) de 5 cm de comprimento, de feijoeiro foram adicionadas nas placas de Petri, com o intuito de disponibilizar alimento para os insetos.

Ao pecíolo destas estruturas foi adicionada uma porção de algodão hidrófilo umedecido em água destilada, o que as mantiveram vivas durante o experimento. As placas foram cobertas com pedaços de tecido (tipo tule), com entrenós menores

que 1mm, o que propiciou a oxigenação no interior das placas. O tecido foi fixado nas placas com elásticos super-amarelo (Mercur®). As placas foram mantidas em estufa B.O.D sob uma temperatura constante de 25°C. A cada 24 horas foi realizada a contagem dos insetos mortos e vivos, totalizando duas contagens no período total do experimento, 48 horas.

Experimento 2: (Pulverização) – Neste experimento, 400 pulgões adultos foram distribuídos, em número de dez, em placas de Petri de diâmetro 90x15mm, as quais foram pulverizadas a 15cm de distância, com a suspensão de cada extrato obtido (aquoso ou alcoólico), na concentração utilizada em cada tratamento. Em seguida, estruturas (folhas e brotos novos) de 5 cm de comprimento, de feijoeiro foram adicionadas nas placas de Petri, com o intuito de disponibilizar alimento para os insetos.

Ao pecíolo destas estruturas foi adicionada uma porção de algodão hidrófilo umedecido em água destilada, o que as mantiveram vivas durante o experimento. As placas foram cobertas com pedaços de tecido (tipo tule), com entrenós menores que 1mm, o que propiciou a oxigenação no interior das placas. O tecido foi fixado nas placas com elásticos super-amarelo (Mercur®). As placas foram mantidas em estufa B.O.D sob uma temperatura constante de 25°C. A cada 24 horas foi realizada a contagem dos insetos mortos e vivos, totalizando duas contagens no período total do experimento, 48 horas.

Experimento 3: (Material vegetal embebido) – Neste experimento, estruturas apicais (folhas e brotos novos) de 5 cm de comprimento, de feijão não infestado foram embebidas em 20 ml de cada concentração dos extratos. Os pecíolos das folhas foram envolvidos com algodão hidrófilo umedecido em água destilada e colocados em placas de Petri. Em seguida, foram adicionados 10 insetos adultos em cada uma das placas. As placas foram cobertas com pedaços de tecido (tipo tule), para facilitar as trocas gasosas dentro da placa, e presos com elásticos super amarelo (Mercur®). As placas foram mantidas em estufa B.O.D sob temperatura constante de 25°C. A cada 24 horas foi realizada a contagem dos insetos mortos e vivos, totalizando 2 contagens no período de 48 horas.

Análise dos dados

Os dados obtidos foram avaliados, estatisticamente, com o auxílio do programa computacional BIOESTAT 7.0, em um delineamento inteiramente casualizado.

As médias obtidas dos tratamentos foram submetidas a análise de variância (ANOVA), seguidas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), para comparação e contraste das mesmas.

Foi realizada análise de regressão para verificar relação dos tratamentos com a mortalidade dos insetos, utilizando os modelos estatísticos que melhor se ajustaram aos dados, de acordo com o valor do coeficiente de determinação (R^2).

Para o cálculo de eficiência dos tratamentos, foi utilizada a fórmula de ABBOT a partir das médias percentuais do número de insetos vivos na testemunha (T) (controle) e do tratamento (Tr) através de: $E\% = \frac{T - Tr}{T} \times 100$, de acordo com NAKANO *et al.*, (1981).

O efeito da mortalidade foi classificado segundo a seguinte escala: S (seletivo=0 a 20%); B (baixa toxicidade = 21 a 40%); M (média toxicidade= 41 a 60%); A (alta toxicidade= 61 a 100%).

RESULTADOS

Efeito inseticida dos extratos de *P. sanguineus* sobre pulgões adultos no período de 24 horas.

No período de 24h, o maior percentual de mortalidade com o extrato aquoso, foi obtido pelo método de pulverização (Exp.2), com a concentração 15mg/ml, que ocasionou 38% de mortalidade nos insetos, resultado, estatisticamente, diferente da concentração 5mg/ml, que alcançou 22% de mortalidade (Tabela 1).

Os experimentos 1 e 3, no mesmo período do teste, não apresentaram diferenças estatísticas entre as concentrações testadas ($p > 0,05$). Sendo que estas também não diferiram, estatisticamente, do tratamento controle em ambos experimentos.

Tabela 1: Percentual de mortalidade para o extrato aquoso de *Pycnopus sanguineus* no período de 24h (média \pm desvio padrão). Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem, estatisticamente, entre si em nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tipo	EXTRATO AQUOSO			
	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml	Controle H ₂ O
Exp. 1	1 ^a \pm 3,2	2 ^a \pm 4,2	4 ^a \pm 7,0	1 ^a \pm 3,2
Exp. 2	6 ^a \pm 9,7	22 ^b \pm 12,3	38 ^c \pm 12,3	2 ^a \pm 4,2
Exp. 3	2 ^a \pm 4,2	2 ^a \pm 4,2	2 ^a \pm 4,2	1 ^a \pm 3,2

Para extrato etanólico, no período de 24 horas, o método da pulverização (Exp. 2) também foi o que apresentou os melhores resultados, ocasionando 51% de mortalidade nos insetos submetidos a concentração 15mg/ml, seguida pela concentração 5mg/ml (15%). Na tabela 2 são demonstrados os resultados do percentual de mortalidade para as diferentes concentrações do extrato etanólico no período de 24h.

Tabela 2: Percentual de mortalidade para o extrato etanólico de *Pycnopus sanguineus* no período de 24h (média \pm desvio padrão). Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si em nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tipo	EXTRATO ETANÓLICO				
	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml	Controle H ₂ O	Controle DMSO
Exp. 1	0 ^a	2 ^a \pm 4,2	2 ^a \pm 4,2	1 ^a \pm 3,2	0 ^a
Exp. 2	8 ^{ab} \pm 9,2	15 ^b \pm 12,7	51 ^c \pm 8,8	2 ^a \pm 4,2	3 ^a \pm 4,8
Exp. 3	3 ^a \pm 4,8	3 ^a \pm 4,8	5 ^a \pm 7,1	1 ^a \pm 3,2	1 ^a \pm 3,2

Os experimentos 1 e 3 não apresentaram resultados significativos na mortalidade dos insetos, as médias obtidas foram, estatisticamente, similares ao controle aos tratamentos controle e, não alcançaram 10% de mortalidade (Tabela 2).

Efeito inseticida dos extratos de *P. sanguineus* sobre pulgões adultos no período de 48 horas

Na tabela 3 são apresentados os percentuais de mortalidade do extrato aquoso, no período de 48 horas.

Tabela 3: Percentual de mortalidade para o extrato aquoso de *Pycnopus sanguineus* no período de 48h (média \pm desvio padrão). Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si em nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tipo	EXTRATO AQUOSO			
	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml	Controle H ₂ O
Exp. 1	3 ^a ±6,7	3 ^a ±6,7	4 ^a ±7	4 ^a ±8,4
Exp. 2	17 ^a ±8,2	35 ^b ±21,2	64 ^c ±10,7	4 ^a ±7
Exp. 3	2 ^a ±4,2	4 ^a ±7	5 ^a ±7,1	1 ^a ±3,2

Para este período de testes, verificou-se que o método da pulverização (Exp. 2), na concentração 15mg/ml para o extrato aquoso, induziu a mortalidade de 64% dos insetos, seguida pela concentração 5mg/ml (35%). Entretanto, a primeira concentração apresentou diferença estatística das demais do experimento ($p < 0,05$).

Para os experimentos 1 e 3, não houve diferença estatística entre as médias e o tratamento controle ($p > 0,05$).

Para o extrato etanólico, no tempo de 48h, o método de pulverização também foi o que se apresentou mais significativo, a concentração 15mg/ml alcançou um percentual de 72% no controle dos pulgões, apresentando diferença estatística em relação às demais concentrações do experimento ($p < 0,05$).

Tabela 4: Percentual de mortalidade para o extrato etanólico de *Pycnopus sanguineus* no período de 48h (média \pm desvio padrão). Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem, estatisticamente, entre si em nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tipo	EXTRATO ETANÓLICO				
	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml	Controle H ₂ O	Controle DMSO
Exp. 1	2 ^a ±4,2	4 ^a ±5,2	4 ^a ±5,2	4 ^b ±8,4	3 ^a ±6,7
Exp. 2	26 ^a ±15,1	41 ^b ±5,7	72 ^c ±9,2	4 ^d ±7	4 ^d ±5,2
Exp. 3	7 ^a ±9,5	7 ^a ±8,2	10 ^a ±8,2	1 ^a ±3,2	3 ^a ±4,8

Os experimentos 1 e 3, para esse período de tempo, apresentaram uma baixa atividade inseticida, não havendo diferença significativa entre suas médias e as dos tratamentos controle ($p > 0,05$).

Estimativa da mortalidade por curva de regressão para o método da pulverização.

Optou-se pelo método da pulverização para análise de regressão em virtude de ter apresentado melhor resultado para mortalidade, nos dois extratos testados.

Pelo ajustamento da curva de regressão o modelo estatístico mais adequado para o extrato aquoso foi o geométrico, que apresentou um coeficiente de determinação (R^2) igual 99,68%.

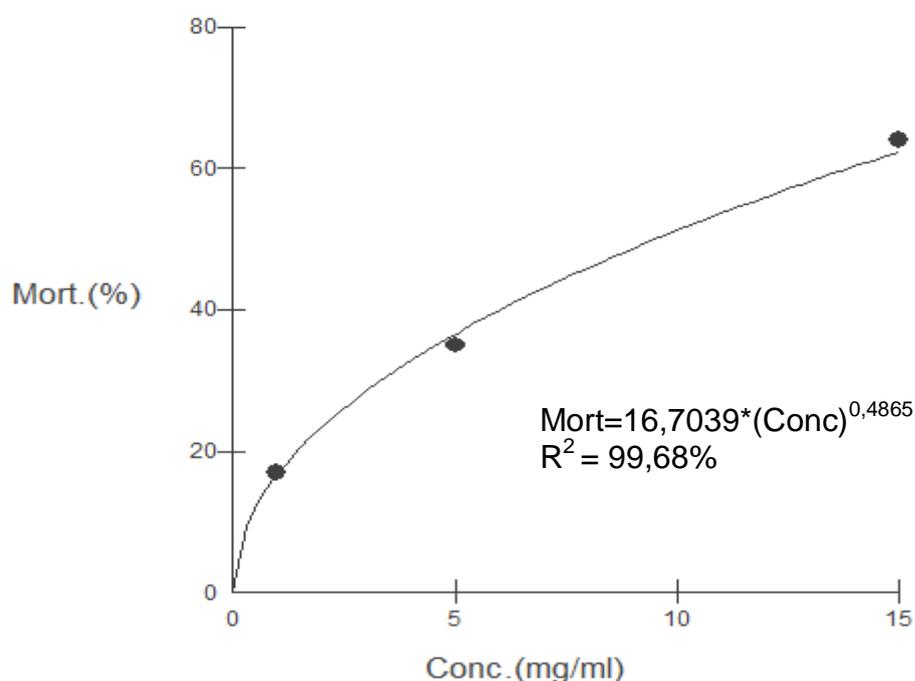


Figura 3: Regressão geométrica do extrato aquoso de *Pycnoporus sanguineus* com o método de pulverização em 48h.

Diante do modelo ajustado, foi realizada a estimativa da mortalidade dos valores obtidos nas diferentes concentrações testadas no experimento, assim como, outros valores que se queiram determinar.

Os valores percentuais de mortalidade estimados pelo modelo estatístico são similares aos valores percentuais de mortalidade obtidos nas concentrações dos tratamentos (Tabela 5). Além disso, nota-se que o incremento no valor da concentração do extrato ocasiona o aumento da mortalidade obtida. De acordo com os valores estimados pelo modelo estatístico, na concentração de 15mg/ml induz-se 62,3% de mortalidade dos insetos, o que se aproxima, estatisticamente, ao percentual obtido experimentalmente.

Ainda de acordo com o modelo estatístico, a Concentração Letal Média (CLM), para este experimento, é estimada em 9,55mg/ml (tabela 5), na qual é prevista a mortalidade de até 50% dos insetos.

Tabela 5: Valores estimados de mortalidade (%) pelo modelo estatístico geométrico ($Mort=16,7039*(Conc)^{0,4865}$) para o extrato aquoso com o método de pulverização no período de 48 h.

Conc.(mg/ml)	Mort. medida (%)	Mort. estimada (%)
1	17	16,7
5	35	36,5
9,55	-	50,0
10	-	51,0
15	64	62,3

A tabela 6 apresenta os valores estimados de mortalidade para o extrato etanólico com o método de pulverização no período de 48h. Os valores percentuais médios de mortalidade foram submetidos à análise de regressão, o melhor ajuste aos pontos empíricos foi obtido com a linear, que apresentou coeficiente de determinação (R^2) de 99,8%. O ajuste dos pontos empíricos da porcentagem de mortalidade pela concentração e o ajuste da equação para o modelo são apresentados na figura 4.

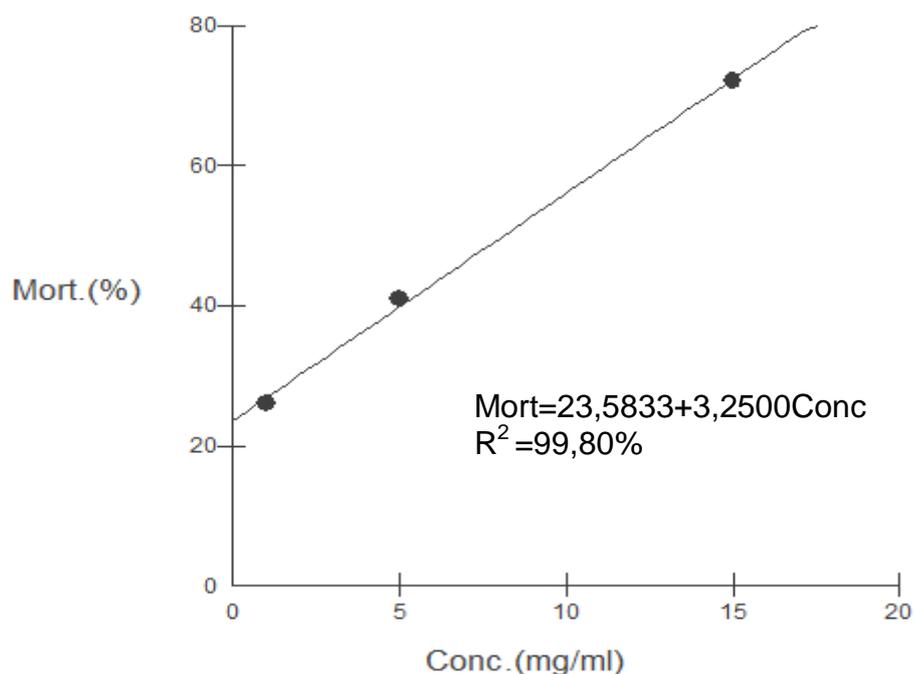


Figura 4: Regressão linear do extrato etanólico de *Pycnoporus sanguineus* com o método de pulverização em 48h.

De acordo com os dados obtidos pelo modelo estatístico, pode-se notar que o extrato etanólico foi eficiente na mortalidade dos insetos, induzindo em 72,3% a mortalidade na concentração 15mg/ml, valor comparável ao experimental (Tabela 6). A Concentração Letal Média (CLM), para este experimento com o extrato etanólico, foi estimada em 8,13mg/ml, pelo qual, pôde-se obter o valor na porcentagem 50 de mortalidade.

Tabela 6: Valores estimados de mortalidade (%) pelo modelo estatístico linear (Mort=23,5833+3,2500Conc) para o extrato etanólico com o método de pulverização no período de 48h.

Conc.(mg/ml)	Mort. medida (%)	Mort. estimada (%)
1	26	26,8
5	41	39,8
8,13	-	50,0
10	-	56,0
15	72	72,3

Eficiência dos Extratos

A eficiência dos extratos aquoso e etanólico, após 24 horas, são demonstradas na tabela 7. Os métodos 1 e 3, para este período de tempo, apresentaram pouca ou nenhuma eficiência para o extrato aquoso, enquanto que, nas mesmas condições, o método 2 (pulverização), apresentou um incremento gradativo em sua eficiência com o aumento a concentração dos extratos, atingindo 36,7% na maior concentração (15mg/ml).

Tabela 7: Eficiência dos extratos de *P. sanguineus* no controle do pulgão em diferentes concentrações no período de 24 h.

Tipo	EXTRATO AQUOSO			EXTRATO ETANÓLICO		
	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml
Exp. 1	0%	1%	3%	0%	1%	1%
Exp. 2	4,2%	20,4%	36,7%	6,1%	12,3%	49,4%
Exp. 3	1%	1%	1%	2%	2%	4%

Para o extrato etanólico, no mesmo período de tempo, os resultados evidenciaram baixa eficiência nas propriedades inseticidas, para os métodos 1 e 3. O método da pulverização (Exp. 2), como ocorreu para o extrato aquoso, foi o que apresentou os melhores resultados, com eficiência de 49,4% na maior concentração (15mg/ml).

Após o período de 48h, os métodos de embebição (Exp. 1 e 3) continuaram mostrando baixa eficiência para o extrato aquoso, enquanto que a pulverização mostrou toxicidade crescente, de acordo com o aumento das concentrações, alcançando 62,5% na concentração de 15mg/ml (tabela 8).

Tabela 8: Eficiência dos extratos de *P. sanguineus* no controle do pulgão em diferentes concentrações no período de 48 h.

Tipo	EXTRATO AQUOSO			EXTRATO ETANÓLICO		
	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml	1mg/ml	5mg/ml	15mg/ml
Exp. 1	-1%	-1%	0 %	-2%	0%	0
Exp. 2	13,5%	32,2%	62,5%	22,9%	38,5	70,8
Exp. 3	1%	3%	4%	6%	6%	9%

Para o extrato etanólico, a pulverização continuou sendo o método com melhor eficiência inseticida, apresentando valores crescentes na medida em que se aumentou a concentração, chegando a 70,8% no tratamento com 15mg/ml de extrato. Os métodos 1 e 3 apresentaram, também com este diluente, baixa ou, nenhuma eficiência nas concentrações utilizadas, o que pode ser observado na tabela 8.

O método da pulverização, utilizando o extrato etanólico de *P. sanguineus* foi o que apresentou maior eficiência na mortalidade dos pulgões.

DISCUSSÃO

Pesquisas realizadas com extratos obtidos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* para o controle de insetos pragas de lavoura, não foram encontradas na literatura. Entretanto, é reportada a utilização deste fungo, em diversos trabalhos como indução de resistência a plantas (PEITER-BENINCA, 2008; VIECELLI, 2010), controle microbiano de doenças de plantas (TOILLIER *et al.*, 2010), controle de fitopatógenos (FIGUEIREDO, 2014) entre outros. Dessa forma, os resultados obtidos neste trabalho foram discutidos com base em pesquisas realizadas com extratos de plantas, principalmente, aqueles que já são comercializados.

De modo geral, os extratos aquoso e etanólico de *P. sanguineus*, no período de 24 horas, revelaram uma atividade inseticida seletiva sobre o pulgão preto do feijoeiro (*Aphis craccivora*), quando estes extratos foram utilizados com os métodos de embebição (experimentos 1 e 3), apresentaram taxas inferiores a 10% de mortalidade e uma atividade que variou de baixa a média, quando utilizado os extratos com o método da pulverização (Exp. 2).

BREDA *et al.*, (2011), avaliando os efeitos de inseticidas botânicos sobre o pulgão *Aphis gossypii*, utilizando a imersão de discos vegetais, obteve uma mortalidade que variou entre 12% a 92% para o extrato aquoso de *Azadiracta indica*, diferente daquela obtida no presente trabalho, utilizando o método de embebição, o qual não evidenciou atividade significativa. Neste estudo, o extrato aquoso de *P. sanguineus*, com a pulverização, causou níveis de mortalidade variando de 6% a 38%.

Para o extrato etanólico, no período de 24 horas, a pulverização causou níveis de mortalidade variando de 8% a 51%. Pôde-se notar, que no período

determinado para o estudo, dependendo da concentração utilizada, o extrato etanólico passa a apresentar uma média toxicidade acima de 50%, o que indica a mortalidade aumentando na medida em que se aumentou a concentração do extrato. CARVALHO *et al.*, (2008), avaliando a eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. JUSS) no controle de *Brevicoryne brassicae* (LINNAEUS, 1758) e *Myzus persicae* (SULZER, 1776), utilizando o método da pulverização em diversas concentrações do óleo, sobre discos foliares contendo os insetos, verificaram que a mortalidade foi crescente na medida em que se aumentou a concentração, obtendo médias de mortalidade que variaram entre 33,3% a 96,7% para *B. brassicae*, no período de 24h, sendo que este não apresentou boa atividade sobre *M. persicae*.

Para o extrato aquoso, no período de 48 horas, o método da pulverização continuou sendo o experimento com melhores resultados no controle dos pulgões, obtendo-se 64% de mortalidade dos insetos com a concentração de 15mg/ml. Gonzaga *et al.*,(2008), avaliaram a eficiência do extrato aquoso de manipueira (*Manihot esculenta* Crantz) e erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) utilizando a pulverização sobre *Toxoptera citricida* (pulgão-preto), obtendo 100% de mortalidade, com a concentração de 50 mg. ml⁻¹ para ambas as espécies, apenas após 120h de tratamento. Em comparação com este trabalho, nota-se que a concentração e o tempo de tratamento utilizado pelo autor, foram muito superiores aos utilizados no presente estudo.

Os resultados para o extrato etanólico, após 48 horas, também foram significativos apenas com o método de pulverização. A mortalidade dos insetos variou entre 26% a 72%, podendo-se notar que a mortalidade aumenta na medida em que se aumenta a concentração do extrato, determinando uma alta toxicidade deste extrato para os insetos na concentração 15mg/ml, atingindo nível de controle acima de 70%. No trabalho realizado ARAUJO Jr *et al.*, (2009), avaliando a eficiência de nim, formulado utilizando o método da pulverização para o controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae), notou-se que a mortalidade em 90% e 81% para as concentrações 2,0% e 1,0%, respectivamente e, em imersão foliar, o extrato vegetal induziu a mortalidade em 79% e 77%, de acordo com as respectivas concentrações. Entretanto, as concentrações de nim, utilizadas pelos autores, são superiores as utilizadas neste trabalho com o extrato de *P. sanguineus*.

Em relação à eficiência dos extratos num período de 24 horas, a pulverização foi o método que mostrou melhores resultados. A melhor eficiência 36,7% para o extrato aquoso e, 49,4% para o etanólico, respectivamente, foi obtida com a concentração de 15mg/ml para ambos os extratos. SILVA *et al.*, (2013), avaliaram a eficiência do óleo essencial de folhas de *Piper tuberculatum* Jacq, com a aplicação de diversas concentrações em papel filtro e obtiveram eficiência de apenas 24,2% no controle de *Aphis cracivora* Koch, com a concentração de 10⁻¹% no período de 24horas. Entretanto, quando estes autores aumentaram a concentração para 1%, obtiveram uma eficiência de 95% no controle do inseto.

Para o período de 48 horas, a pulverização continuou sendo o método com melhor efeito, a eficiência para os extratos aquoso e etanólico de *P. sanguineus*, nesse período, foram de 62,5% e 70,8%, respectivamente, ambas obtidas com a concentração de 15mg/ml extrato.

No trabalho realizado por COSTA *et al.*, (2010), avaliando a eficácia de diferentes formulações comerciais e extrato aquoso de sementes de nim (*Azadiracta indica*) no controle do pulgão-preto (*Aphis craccivora*) em feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*), a menor eficiência foi para o extrato aquoso de nim (44,8%), seguido do Natuneem[®] (81,15%). O produto comercial Neenmazol T/S[®], foi o que apresentou maior eficiência (91,35%), para os tratamentos a base azadiractina. Para o tratamento controle a base de acefato, a eficiência foi de 100% na mortalidade. De acordo com este autor, a baixa eficiência do extrato aquoso de semente de nim, no controle do pulgão preto-preto, pode ter ocorrido devido ao fato de que, além de compostos ativos, existem outros compostos inertes presentes na semente, que podem impedir a ação dos componentes ativos. Por outro lado, a alta eficiência de Neenmazol T/S[®], possivelmente, ocorre pelo fato deste produto sofrer processo de purificação, concentrando azadiractina e eliminando produtos pouco ativos.

Dessa forma, pode-se inferir que, a atividade dos extratos aquoso e etanólico de *P. sanguineus*, registrada neste trabalho, podem estar relacionadas a dois fatores principais: 1) tipo de solvente utilizado, para a retirada dos componentes bioativos dos carpóforos e; 2) formas de aplicação dos extratos.

Devido a sua polaridade, a água pode retirar do produto que está sendo dissolvido a maioria dos componentes presentes, assim retirando tanto os compostos ativos, quanto os não ativos, presentes no fungo. Esses componentes inertes podem ter impedido a ação dos ativos, refletindo na baixa ou nenhuma

atividade do extrato aquoso, principalmente, para os experimentos 1 e 3. Por outro lado a melhor atividade do extrato etanólico, pode ter ocorrido, por razões inversas ao anterior. O álcool é uma substância menos polar que a água e, portanto, mais seletivo que ela, isso pode ter ocasionado na retirada dos compostos mais ativos dos carpóforos, tornando este extrato mais ativo que o aquoso.

Em relação às formas de aplicação, a pulverização, foi o método mais eficiente entre todos os tratamentos utilizados, tanto para o extrato aquoso, quanto para o alcoólico. De acordo com AGUIAR- MENEZES (2005), em vegetais, podem-se distinguir, basicamente, três tipos de modo de ação das substâncias sobre insetos: 1) Ação tóxica, repelente e/ou antialimentar; 2) Ação sobre órgãos ou moléculas-alvo e; 3) Ação por contato ou ingestão. Dessa forma, infere-se que a eficiência da pulverização dos extratos de *P. sanguineus*, pode estar relacionada, basicamente, ao modo de ação 3 (Ação por contato ou ingestão) devido, principalmente, ao modo invasivo de contato do extrato com o inseto, ou seja, devido à velocidade e por ser um método em que se aplica o inseticida, diretamente, sobre o inseto, partículas desse extrato podem atingir estruturas mais vulneráveis do exoesqueleto do inseto, como, por exemplo, as junções entre a cutícula, fazendo com que compostos presentes no extrato sejam absorvidos direto e, mais rapidamente, pela cutícula do inseto, podendo chegar até ao sistema nervoso central causando a morte do animal.

CONCLUSÃO

- De modo geral, o estudo revelou atividade inseticida (variando de seletiva a alta toxicidade, de acordo com a concentração utilizada) dos extratos aquoso e etanólico de *P. sanguineus* sobre *Aphis craccivora* (pulgão-preto-do-feijoeiro).
- O extrato etanólico apresentou maior eficiência na mortalidade dos pulgões, sendo o mais indicado para o controle do pulgão-preto. Por outro lado, o extrato aquoso, também apresentou boa eficiência, sendo uma alternativa para o controle do *Aphis craccivora*, principalmente, em termos econômicos.

- A pulverização foi o método que apresentou uma alta eficiência no tratamento dos insetos, sendo o método indicado por este estudo, quando da utilização destes extratos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR-MENEZES, E. L. Inseticidas botânicos: seus princípios modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. (Embrapa: Agrobiologia. **Documentos**, **205**). 2005.

ARAUJO Jr, J. M; MARQUES, E. J; OLIVEIRA, J. V. Potencial de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do nim no controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera:Aphididae). **Neotropical Entomology** 38 (4). 2009.

ÁVILA, C. J; VIVAN, L. M; TOMQUELSKI, G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. **Circular técnica 23**. Dourados-MS. 2013.

BARROS, R. Pragas do milho. **Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/1012**. Disponível em <[HTTP://www.fundacaoms.org.br/uploads/publicacoes/14%20-%20pragas%20do%20milho_274738388.pdf](http://www.fundacaoms.org.br/uploads/publicacoes/14%20-%20pragas%20do%20milho_274738388.pdf)>. Acesso em 13 nov. 2013, 14:13:23.

BRAGA LOVATTO, P; SCHIEDECK, G; MELLO GARCIA, F. R. A interação co-evolutiva entre insetos e plantas como estratégia ao manejo agroecológico em agroecossistemas sustentáveis. **Interciencia**, Caracas, Venezuela, vol. 37, n. 9, 2012, pp. 657-663. 2012.

BREDA, M. O; OLIVEIRA, J. V; MARQUES, E.J; FERREIRA, R. G; SANTANA, M. F. Inseticidas botânicos aplicados sobre *Aphis gossypii* e seu predador *Cycloneda sanguinea* em algodão- colorido. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.46, n. 11. 2011.

CARVALHO, G.A; SANTOS, N. M; PEDROSO, E. C; TORRES, A. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadiracta indica* A. JUSS) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnæus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-

manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus Var. Acephala. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.75. n. 2. 2008.

COSTA, J. V.T; BLEICHER, E; CYSNE, A. Q; GOMES, F. H. T. Óleo e extrato aquoso de sementes de nim, azadiractina e acefato no controle do pulgão-preto do feijão-de-corda. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 40, n. 2. 2010.

FIGUEIREDO, A.S. **Avaliação “in vitro” dos extratos de basidiomicetos frente à de fitopatógenos prejudiciais à produção de hortaliças de pequenos produtores da região do Baixo Amazonas (AM)**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós – Graduação em Biotecnologia. Universidade do Estado do Amazonas. Manaus,105pp. 2012.

FIGUEIREDO, A; CASTRO E SILVA, A. Atividade “in vitro” de extratos de *Pycnopus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatógeno *Fusarium* sp. **Acta Amazônica**, v. 44(1). 2014.

IMENES, S. L. IDE, S. Principais grupos de insetos pragas em plantas de interesse econômico. Centro de pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal. Instituto Biológico São Paulo. **Biológico, São Paulo**, v.64, n. 2, p. 235-238. 2002.

LAMMERS, J. W.; MACLEOD, A. **Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808)**. [S.l.: s.n.], 2007. Disponível em: <<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pdf>> acessado em 04 de novembro de 2014.

MARIANO, R. L. R; SILVEIRA, E. B; PONTES, M. F.C; COSTA, F. M; SILVA, S. J C. Transmissão de fitobacterioses por insetos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, vol. 4, p. 214-239, Recife, 2007.

MARQUES, C. J. S. **Atividade antiparasitária e antiviral de *Pycnopus sanguineus* (L.:Fr.) Murr.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós- Graduação em biotecnologia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 73 pp. 2001.

MICHEREFF FILHO, M.; RESENDE, F. V.; VIDAL, M. C.; GUIMARÃES, J. A.; MOURA, A.P.; SILVA, P. S.; REYES, C. P. Manejo de pragas em hortaliças durante a transição agroecológica. **Circular Técnica 119**. Brasília- DF, 2013.

PEITER-BENINCA, C; FRANZENER, G; ASSI, L; IURKIV, L; ECKSTEIN, COSTA, V.C; NOGUEIRA, M. A; STANGARLIN, J.R; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.75, n. 3. 2008.

SILVA, P. H. S; CARVALHO, D. P; BARRETO, A. L. H; CASTRO, M de J. P. Eficiência de doses do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq. Sobre adultos do pulgão-preto-do-feijão-caupi *Aphis craccivora* Koch. III CONAC- Congresso Nacional de feijão-caupi. Recife- PE. 2013.

SILVA, R. A.; MICHELOTTO, M. D.; JORDÃO, A. L. Levantamento preliminar de pulgões no Estado do Amapá. **Circular técnica 32**. Macapá- AP. 2004.

SILVA, W. G. **Manejo da irrigação para o feijão-de-metro cultivado em ambiente protegido**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Lavras. Minas gerais, 96 p. 2011.

SOUZA, T. P; SOUSA NETO, E. P; SILVEIRA, L. R. S; SANTOS FILHO, E. F; MARACAJÁ, P. B. Utilização de plantas como repelentes e inseticidas naturais: Alternativa de produção orgânica e sustentável na agricultura familiar. **Revista verde**, v 9., n. 4, p. 01. (Pombal- PB- Brasil)-2014.

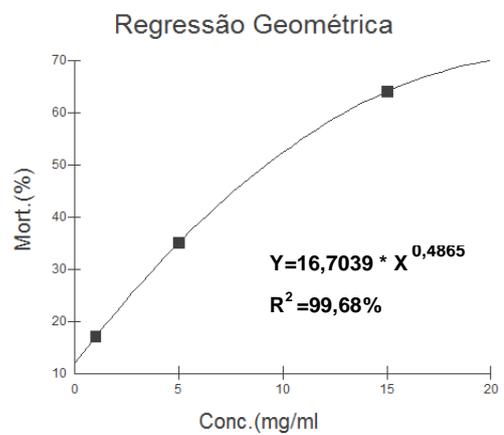
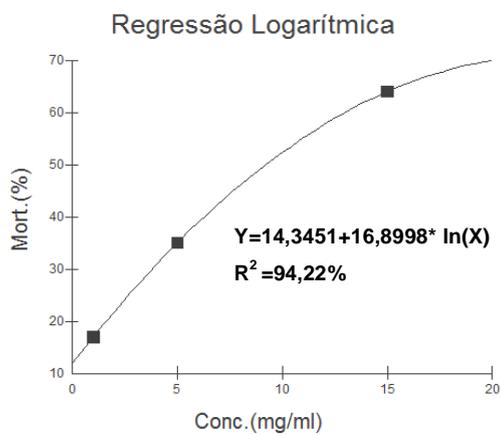
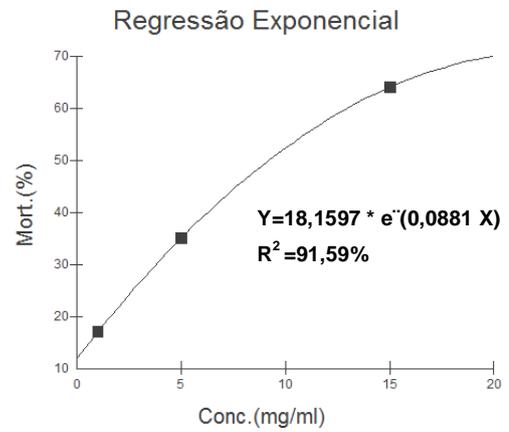
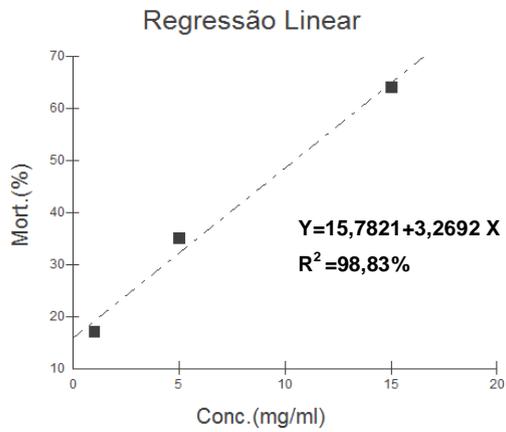
TOILLIER, S. L; IURKIV, L; MEINERZ, C. C; BALDO, M; VIECELLI, C. A; KUHN, O. J; SHWAN-ESTRADA, K. R. F; STANGARLIN, J. R. Controle de cretamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* PV Phaseoli) e alterações bioquímicas em feijoeiro induzidas por *Pycnoporus sanguineus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 77. 2010.

VIECELLI, C. A; STANGARLIN, J. R; KUHN, O. J; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa phytopathol.** [online]. 2010, vol.36, n.1, pp. 73-80. ISSN 0100-5405.

WOLFF, V. R. S. HEMIPTERA Linnaeus,1758: SUBORDEM STERNORRHYNCHA Amyot & Serville, 1843. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C.J.B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R.(Editores). **Insetos do Brasil**: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto. Holos, Editora, 2012.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Modelos estatísticos para o método de pulverização com extrato aquoso no período de 48 h



APÊNDICE B - Modelos estatísticos para o método de pulverização com extrato Etanólico no período de 48 h

