

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

WELINGTON ADOLFO DE BRITO

**FORMULAÇÃO E APLICAÇÃO DE INSETICIDA BOTÂNICO PARA CONTROLE
DA BROCA-DO-CAFÉ**

**UBERLÂNDIA
2019**

WELINGTON ADOLFO DE BRITO

**FORMULAÇÃO E APLICAÇÃO DE INSETICIDA BOTÂNICO PARA CONTROLE
DA BROCA-DO-CAFÉ**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli

Co-orientadora: Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

UBERLÂNDIA
2019

WELINGTON ADOLFO DE BRITO

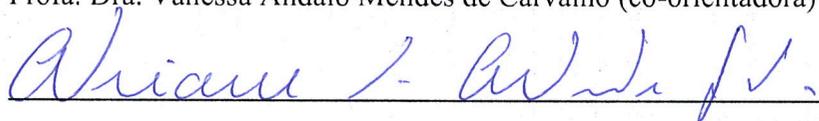
**FORMULAÇÃO E APLICAÇÃO DE INSETICIDA BOTÂNICO PARA
CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

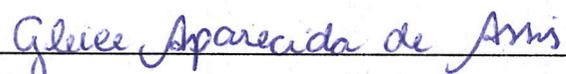
Aprovada em 19 de fevereiro de 2019.



Prof.ª Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho (co-orientadora) UFU



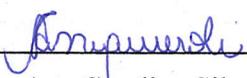
Prof.ª Dra. Adriane de Andrade Silva UFU



Prof.ª Dra. Gleice Aparecida de Assis UFU



Prof. Dr. Flávio Lemes Fernandes UFV



Prof.ª Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli
IBTEC – UFU
(Orientadora)
Uberlândia
Minas Gerais – Brasil
2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

B862 Brito, Welington Adolfo de, 1971-
2019 Formulação e aplicação de inseticida botânico para controle da
broca-do-café [recurso eletrônico] / Welington Adolfo de Brito. -
2019.

Orientadora: Ana Carolina Silva Siquieroli.
Coorientadora: Vanessa Mendes de Carvalho Andaló.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Qualidade Ambiental.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2465>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Desenvolvimento sustentável. I. Siquieroli, Ana Carolina
Silva, 1982-, (Orient.). II. Andaló, Vanessa Mendes de Carvalho,
1977-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-
graduação em Qualidade Ambiental. IV. Título.

CDU: 502.33

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

Aos meus pais, por serem fonte de amor, inspiração e conquistas, dedico não só este trabalho, mas toda a minha existência.

A minha esposa, meus filhos e minha neta, por serem meu amparo nos momentos de dificuldades, minha alegria e fonte de energia para alcançar minhas metas e objetivos, dedico não só este trabalho, mas toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

Sobretudo a Deus, por estar sempre me iluminando e por ter me guiado até nos momentos mais difíceis da minha vida. Só a Ele, toda honra e glória para todo sempre.

Aos meus pais, Levi e Iolanda, que sempre estiveram ao meu lado durante toda a minha vida, educando-me no caminho do bem e da fé.

À minha amada esposa, Luciana, aos meus filhos, Welington Júnior e Juliana, e à minha netinha, Sofia, por me apoiarem com amor, carinho e dedicação. Amo vocês.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli, e à minha coorientadora, Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho, que sempre iluminaram e incentivaram minhas ações, nunca medindo esforços para que este trabalho fosse realizado. Ressalto toda a minha admiração, respeito e agradecimentos a elas, pois são um espelho para eu ser um bom profissional, como educador e cientista.

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU), à Pró-reitora de Pesquisa e Pós-graduação (PROPP/UFU), ao Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) e ao Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental (UFU), pelo incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento sustentável e ambiental.

A todos os professores do programa, os quais cito como representantes do corpo docente a Prof. Dra. Adriane de Andrade Silva e o Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães.

Ao Sr. Laércio Antônio Crippa, por ceder a área da fazenda Araras, no município de Monte Carmelo, para realização dos experimentos, colaborando de forma muito importante com este trabalho.

Ao Sr. Sebastião Teixeira de Souza, por ceder a área para coleta dos insetos utilizados nesta pesquisa.

A Gleidson Caetano da Silva, Jéssyca Gonçalves Duarte e demais colegas do programa, por terem me auxiliado, sendo uma grande fonte de conhecimento e auxílio em minha pesquisa.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil), pelo fomento, pelo apoio financeiro (Código de Financiamento 001) e pela consolidação do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Qualidade Ambiental e demais programas no Brasil.

A todos que seguraram minhas mãos e aos que soltaram também; eu nunca os esquecerei.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é se não uma gota d’água no oceano. Mas o oceano seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

BRITO, Welington Adolfo de. **Formulação e aplicação de inseticida botânico para controle da broca-do-café.** 2019. 56p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.¹

O café arábica ocupa 1,74 milhões de hectares no Brasil, que representam 81% da área cultivada com cafeeiros no país, e, destes, 68,8% (1,21 milhões de hectares) concentram-se em Minas Gerais. Apesar de ser uma cultura com muitos investimentos tecnológicos, vários fatores podem contribuir para a redução da produtividade, como os artrópodes-praga. A broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) é considerada uma das principais pragas da cultura do cafeeiro, causando prejuízos em função das perfurações e galerias que faz nos grãos, o que pode acarretar perdas na produção e redução na qualidade da bebida. Por esse motivo, este trabalho objetivou avaliar o efeito da formulação de um inseticida botânico para controle da *H. hampei* e identificar os ácidos graxos constituintes do óleo de nim (*Azadirachta indica*). Nos ensaios em ambiente controlado, utilizaram-se indivíduos adultos de *H. hampei*, os quais foram mantidos em placas de Petri em BOD (*bio-oxygen demand*), na ausência de luz, em temperatura de 25 ± 2 °C e em seis diferentes concentrações da formulação (0,50%; 0,62%; 0,75%; 0,87%; 1,0%; e 1,12%) e em água destilada como controle. O efeito da formulação foi avaliado quando ela foi aplicada sobre o papel-filtro que forrava as placas e em aplicação direta sobre os insetos adultos (aplicação tópica). Foi registrado o número de indivíduos mortos em um intervalo de 6 horas durante 48 horas, sendo avaliada a porcentagem de mortalidade confirmada para cada concentração. A identificação dos constituintes químicos do óleo de nim foi realizada por espectrometria de massa com cromatografia a gás. Os testes em campo foram efetuados em cafeeiros da cultivar Topázio MG-1190, com quatro aplicações do composto formulado intervaladas com uma frequência temporal de 20 dias. O experimento foi realizado em delineamento, em faixas com 10 repetições, com a aplicação de três tratamentos – (1) inseticida botânico, (2) controle (água) e (3) inseticida químico (padrão), totalizando 30 parcelas. Avaliaram-se os efeitos da presença de *H. hampei* por meio das injúrias causadas aos frutos (grãos brocados ou perfurados). Para as análises dos dados laboratoriais, aplicaram-se o teste de regressão linear e o teste Tukey com intervalo de confiança de 5%. Para os dados de campo, utilizou-se o teste Tukey com intervalo de confiança de 1%. Em relação às análises de atividade inseticida da formulação botânica em ambiente controlado, após observação por 48 horas, obteve-se uma mortalidade dos insetos de 63,34% e 100% com a formulação aplicada sobre o papel-filtro e diretamente sobre os insetos, respectivamente. Já nas avaliações da atividade inseticida realizadas em campo, houve redução da incidência populacional de *H. hampei* em 62,4% frente à testemunha, igualando-se significativamente aos inseticidas químicos utilizados. Assim, a formulação botânica mostrou-se como um possível substituto para inseticidas químicos sintéticos, podendo ser utilizada em programas de controle de *H. hampei*.

Palavras-chave: Artrópodes-praga. Controle alternativo. *Hypothenemus hampei*.

¹ Comitê orientador: Profa. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli (UFU) e Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho (UFU).

ABSTRACT

BRITO, Welington Adolfo de. **Formulation and application of botanical insecticide to control coffee berry borer**. 2019. 56p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.¹

Arabica coffee occupies 1.74 million hectares, representing 81% of the area planted with coffee in Brazil, of which 68.8% (1.21 million hectares) are concentrated in Minas Gerais. Although it is a crop with many technological investments, there are many factors that can contribute to the reduction of productivity, among them are the arthropod-plagues that affect the crop. The coffee borer (*Hypothenemus hampei*) is considered one of the main pests of the coffee crop, causing damages due to the perforations and galleries that make in the grains, which can lead to losses in the production and reduction in the quality of the drink. In this way, this work aimed to evaluate the effect of the formulation of a botanical insecticide for the control of *H. hampei*, in addition to the identification of fatty acids constituents of neem oil (*Azadirachta indica*). In controlled environments, adult *H. hampei* individuals were kept in Petri dishes in B.O.D. in the absence of light at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ with six different concentrations of the formulation (0.50%, 0.62%, 0.75%, 0.87%, 1.0% and 1.12%) and distilled water as control. The effect of the formulation was evaluated when it was applied to the filter paper that lined the plates and applied directly to the adult insects (topical application). The number of dead individuals was recorded with a 6 hour interval for 48 hours, and the percentage of confirmed mortality for each concentration was evaluated. Identification of the chemical constituents of neem oil was performed by mass spectrometry with gas chromatography. Field trials were performed on coffee plants of Topázio MG-1190 cultivar, with four applications of the formulated compound being intervaled with a temporal frequency of every 20 days. The experiment was carried out in a 10-repetition plot design, with 1-botanical insecticide treatments; 2- control (water) and 3- chemical insecticide (standard), totaling three treatments in a total of 30 plots. The effects of the presence of *H. hampei* were evaluated through the insults caused to the fruits (brocaded or perforated grains). For the analysis of the laboratory data, the linear regression test and Tukey test were applied with confidence intervals of 5%. For the field data, Tukey test was used with confidence intervals of 1%. In relation to the analysis of insecticidal activity of the botanical formulation in a controlled environment, after observation in 48 hours, a mortality of the insects of 63,34% and 100% was obtained, with the formulation applied on the filter paper and directly on the insects, respectively. In the evaluations of the insecticidal activity, in the field, there was a reduction of the population incidence of *H. hampei* in 62.4% compared to the control and similarly with the chemical insecticides used. Thus, the botanical formulation proved to be a possible substitute for synthetic chemical insecticides, which can be used in control programs of *H. hampei*.

Keywords: Arthropod-pest. Alternative control. *Hypothenemus hampei*.

¹ Supervising communittee: Profa. Dra. Ana Carolina Silva Siquieroli (UFU) e Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho (UFU).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Recipiente plástico, de medidas 30 x 30 x 8 cm, utilizado para manutenção de <i>Hypothenemus hampei</i> em laboratório.....	27
Figura 2 – Apresentação das parcelas do ensaio de campo no município de Monte Carmelo/MG.....	31
Figura 3 – Etapas de execução e separação de parcelas para teste no campo e demarcação da área experimental.....	32
Figura 4 – Coleta de frutos secos para avaliação inicial de infestação de <i>Hypothenemus hampei</i> . A: Coleta dos frutos. B: Visualização dos frutos	32
Figura 5 – Preparo e pulverização dos produtos nas parcelas	33
Figura 6 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de <i>Hypothenemus hampei</i> (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre papel-filtro em placas de Petri, após 24 horas de pulverização, com temperatura 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz ($p = 0,0014$).....	37
Figura 7 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de <i>Hypothenemus hampei</i> (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre papel-filtro em placas de Petri, com 24-48 horas após pulverização, com temperatura 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz ($p = 0,02$).....	38
Figura 8 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de <i>Hypothenemus hampei</i> (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre o inseto (tarsal) em placas de Petri após 24 horas de pulverização, com temperatura de 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz (valor- $p = 1.291E^{-16}$).....	40
Figura 9 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de <i>Hypothenemus hampei</i> (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre o inseto (tarsal) em placas de Petri com 24-48 horas após pulverização, com temperatura de 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz (valor- $p = 0,0001$).....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classe, origem e concentração (%) das substâncias utilizadas nos ensaios para controle de <i>Hypothenemus hampei</i>	28
Tabela 2 – Concentração letal média (CL ₅₀) das substâncias presentes no inseticida botânico para controle de <i>Hypothenemus hampei</i>	35
Tabela 3 – Formulação do inseticida botânico para controle de <i>Hypothenemus hampei</i>	36
Tabela 4 – Efeito do inseticida botânico sobre <i>Hypothenemus hampei</i> aplicado em superfície de papel-filtro para avaliar cada concentração dentro de cada período estudado (24 horas, 24-48 horas e 48 horas – somatória dos períodos de avaliação).....	39
Tabela 5 – Efeito do inseticida botânico aplicado diretamente (aplicação tópica no torso) sobre adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> para avaliar cada concentração dentro de cada período estudado (24 horas, 24-48 horas e 48 horas – somatória dos períodos de avaliação). 41	41
Tabela 6 – Composição proporcional de ácidos graxos no óleo de nim.....	43
Tabela 7 – Efeito médio dos tratamentos na incidência (\pm erro padrão) de adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> em ensaio de campo na região de Monte Carmelo/MG, no período de 29 de dezembro de 2017 a 12 de março de 2018.....	44

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

% – Porcentagem

® – Marca registrada

μ – Desvio padrão

μL – Microlitro

Al – Alumínio

ATP – Trifosfato de adenosina

BOD – *Bio-oxygen demand*

Ca – Cálcio

Caccer – Conselho das Associações dos Cafeicultores do Cerrado Mineiro

CAS – Chemical Abstracts Service

CE₅₀ – Concentrado emulsionável

CL₅₀ – Concentração letal

Cu – Cobre

DIC – Delineamento inteiramente casualizado

DL₅₀ – Dose letal mediana

EPA – Ácido eicosapentaenoico

FDA – United States Food and Drug Administration

Fe – Ferro

g – Gramas

g.L⁻¹ – Gramas por litro

h – Hora

ha⁻¹ – Hectare (10.000 m²)

HRGC-MS – Cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas

K – Potássio

L.ha⁻¹ – Litros por hectare

m/z – Razão massa/carga

MDIC – Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior

Mg – Magnésio

MG – Minas Gerais

mg.g⁻¹ – Miligramas por gramas

mg.L⁻¹ – Miligramas por litros

min⁻¹ – Minuto

mL – Mililitros

NIH – *National Institutes of Health*

NIST – *National Institute of Standards and Technology*

°C – Graus Celsius

p – p-valor

pH – Potencial hidrogeniônico

ppm – Partes por milhão

S – Sul

W – Oeste

WP – Pó molhável

σ – Erro padrão

UR – Umidade relativa

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 A cultura do cafeeiro.....	16
2.2 <i>Hypothenemus hampei</i>	17
2.3 Controle químico de <i>H. hampei</i>	19
2.4 Controle alternativo de <i>H. hampei</i> : inseticidas botânicos.....	20
2.5 Biossorventes.....	24
3 OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo geral.....	26
3.2 Objetivos específicos	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Testes em laboratório.....	27
4.1.1 <i>Obtenção dos indivíduos adultos de H. hampei</i>	27
4.1.2 <i>Determinação da CL50 das substâncias selecionadas para controle de H. hampei</i>	28
4.1.3 <i>Avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de H. hampei</i>	29
4.1.4 <i>Identificação dos ácidos graxos constituintes do óleo de nim</i>	30
4.2 Testes em campo	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Testes em laboratório.....	35
5.1.1 <i>Determinação da CL50 das substâncias selecionadas para controle de H. hampei</i>	35
5.1.2 <i>Avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de H. hampei</i>	37
5.1.3 <i>Identificação dos constituintes químicos do óleo de nim</i>	42
5.2 Testes em campo	43
5.2.1 <i>Avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de H. hampei em condições de campo</i>	43
6 CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se mundialmente no cultivo do cafeeiro, que é considerada uma planta exótica, originária do continente africano. Ela pertence à família Rubiácea e ao gênero *Coffea*, no qual duas espécies são cultivadas e comercializadas: *Coffea canephora* Pierre ex Froehner e *Coffea arabica* L. (CONAB, 2018). O café participa ativamente do resultado da balança comercial brasileira, tendo alcançado, nos últimos anos, o quinto lugar nas exportações, o que representa 4,88% de participação no agronegócio brasileiro e um lucro aproximado de US\$ 4,96 bilhões (CECAFÉ, 2017).

No entanto, deve-se sempre observar possíveis alterações na produção correlacionadas a fatores de ordem climática e, em especial, a fatores bióticos, dentre os quais se destacam as doenças, como a ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br) e a cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cooke), e os insetos, como o bicho mineiro (*Leucoptera coffeella* – Guérin-Ménéville – Lepidoptera: Lyonetiidae) e a broca-do-café (*Hypothenemus hampei* – Ferrari – Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (REIS *et al.*, 2010). Em função do nível de infestação, as perdas podem chegar a 80%, alterando a qualidade da bebida e, por fim, interferindo no valor final do produto (REIS, 2002).

A fêmea da broca-do-café fecundada perfura os frutos pela coroa ou pela região da cicatriz floral, abrindo uma galeria onde fará sua postura. O surgimento larval ocorrerá de 4 a 10 dias após a postura, iniciando-se o processo de destruição parcial ou total da semente. Após a fecundação, as fêmeas atacam novos frutos e continuam seus ciclos reprodutivos (REIS *et al.*, 2010).

De acordo com Neves e Hirose (2005), os danos estimados pelo ataque da broca-do-café chegam à ordem de 500 milhões de dólares em todo o mundo. Diante disso, segundo Brun *et al.* (1989), o controle da *H. hampei* é baseado principalmente no uso de inseticidas, muitas vezes de forma indiscriminada, podendo ocasionar contaminação dos alimentos e problemas ambientais nas áreas utilizadas. Kay e Collins (1987) destacaram que o uso contínuo de pesticidas pode provocar desequilíbrios, eliminação de insetos benéficos e possíveis explosões populacionais de pragas, podendo selecionar as populações resistentes.

Com o crescente aumento populacional da praga, acompanhando a expansão do parque cafeeiro, intensificou-se a utilização dos pesticidas, com destaque para o Endossulfan® e o Clorpirifos®, sendo o primeiro mais utilizado para essa finalidade e apresentando alto nível de controle sobre a *H. hampei*, mas seu uso foi proibido em julho de 2013 (ANVISA, 2010).

Dentre as alternativas de controle da *H. hampei*, tem-se o uso de práticas culturais, substâncias biológicas oriundas de fungos, bactérias e insetos e substâncias de origem botânica, que podem apresentar várias interações ambientais, como processos de competição entre plantas e atração de fauna benéfica (inimigos naturais), especialmente microrganismos simbioses na defesa contra herbivoria (RAVEN; EVERT; CURTIS, 2014; CASTRO; KLUGE; PERES, 2005). Diante dessas possibilidades, a utilização de plantas com propriedades inseticidas para atender a demanda de controle de pragas nos cafezais estimulou novas pesquisas, permitindo a síntese de novos produtos ou sua aplicação direta como inseticidas naturais para o controle de insetos-praga (VENDRAMIM, 2000). Em conjunto, a descoberta de novas moléculas e a preocupação com o meio ambiente e, sobretudo, com a saúde humana levaram as pesquisas sobre controle alternativo a incluírem os extratos de plantas como o nim, *Azadirachta indica* (Meliaceae). Esse extrato tem compostos com ação inseticida e repelente, tendo sido estudado para o controle de *H. hampei* (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000).

Alguns inseticidas botânicos apresentam baixo impacto ambiental e atuam como repelentes (DEPIERI *et al.*, 2003) e inibidores da alimentação de pragas, provocando uma redução dos movimentos das paredes intestinais e acarretando perda de apetite por sua atuação como deterrente alimentar (WHEELER; ISMAN, 2001), o que acarreta uma diminuição na oviposição (ZHAO *et al.*, 1998) ou morte por inanição. Atuam também no sistema nervoso central dos insetos (neurotóxicos) e no sistema neuroendócrino, interferindo na ecdise, na metamorfose (reguladores de crescimento) ou na síntese de ATP (trifosfato de adenosina) (ENAN, 2001). Os inseticidas botânicos podem também apresentar ação no sistema hormonal dos insetos, inibindo a maturação dos ovos ou alterando a morfologia dos adultos, com deformação das asas ou outras deficiências (ZHAO *et al.*, 1998).

Dessa maneira, este trabalho objetivou avaliar o efeito da formulação de um inseticida botânico para controle da broca-do-café, além de identificar os ácidos graxos constituintes do óleo de nim (*Azadirachta indica*).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A cultura do cafeeiro

No Brasil, a cafeicultura alcançou o quinto lugar nas exportações em 2018 e foi uma das principais fontes de receita da balança comercial nos últimos anos (CECAFÉ, 2017). A safra cafeeira em 2018 indicou que o país colheu 61,7 milhões de sacas de 60 kg de café beneficiado, que, frente à produção de 44,97 milhões de sacas obtidas na safra passada, representou um aumento de 37,2% na produção (CONAB, 2018).

O Brasil destaca-se no cenário mundial como o maior produtor e exportador de café verde. O Cerrado Mineiro e a região de Mogiana, em São Paulo, reúnem as melhores condições climáticas e os melhores solos para a produção. Na produção de café na safra de 2018, a região do Cerrado Mineiro colheu 7,13 milhões de sacas, com uma produtividade média de 37,73 sacas.ha⁻¹ (CONAB, 2018).

O avanço da cafeicultura em Minas Gerais, após a migração de paranaenses e paulistas, alçou o estado à condição de grande produtor do grão no país. Apesar da pouca tradição cafeeira, o Cerrado Mineiro tornou-se um centro de referência global. De acordo com o Caccer (Conselho das Associações dos Cafeicultores do Cerrado Mineiro), a primeira indicação geográfica formal para o café brasileiro, que estava em tramitação desde 1995, foi concedida ao Caccer em junho de 2005 (JESUS, 2011). O registro de indicações geográficas do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (Inpi), o órgão oficial responsável, vinculado ao Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), deu o reconhecimento oficial da Indicação de Procedência e concedeu a denominação Região do Cerrado Mineiro, sendo a única do mundo a ter identificação geográfica para a produção (Inpi, 2013).

De acordo com Davis *et al.* (2011), existem 124 espécies de cafeeiro (*Coffea* L.), sendo que apenas duas são utilizadas para a produção comercial da bebida de café: café robusta (*C. canephora*) e arábica (*C. arábica*). A produção de ambas as espécies é influenciada negativamente por vários fatores, incluindo mudanças climáticas, mercado e uma vasta gama de patógenos e pragas (GREEN *et al.*, 2015), com destaque para doenças, como a ferrugem e a cercosporiose, e pragas, como o bicho mineiro e a broca-do-café (REIS *et al.*, 2010).

2.2 *Hypothenemus hampei*

A broca-do-café (*H. hampei*) é considerada uma das pragas mais importantes da cafeicultura. Ela foi descrita por Ferrari em 1867, depois de encontrada em um carregamento de café proveniente da África Equatorial. Foi observada pela primeira vez no Brasil em 1913, no estado de São Paulo (SOUZA; REIS, 1997).

A broca ataca o fruto nos vários estágios de maturação e alimenta-se dos tecidos da semente (espermatófaga) (DAMON, 2000). Isso resulta na perda de peso dos grãos e/ou da qualidade do café, o que reflete negativamente sobre o valor comercial do produto (ZORZETTI *et al.*, 2012). A qualidade da bebida também é prejudicada, uma vez que as injúrias ocasionadas pelo inseto servem de entrada para microrganismos, bactérias e fungos, que são agentes responsáveis pelo apodrecimento e pela queda dos frutos (SPONAGEL, 1994). Além disso, muitos desses microrganismos têm associação direta com a broca-do-café e são responsáveis pela produção de toxinas no grão, representando um perigo para a saúde humana (PÉREZ *et al.*, 2007).

A broca-do-café apresenta cinco estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto. Em relação à duração de cada fase do desenvolvimento, foram realizadas as seguintes observações em condições de laboratório: ovo, de 4 a 10 dias; larva, de 10 a 16 dias; e pupa, de 5 a 6 dias, resultando em um ciclo de 22 a 32 dias da fase de ovo à fase adulta (LAURENTINO; COSTA, 2004). Os ovos são brancos, elípticos, com brilho leitoso e comprimento de 0,5 a 0,8 mm. As larvas medem cerca de 2 mm, apresentam coloração branca e têm peças bucais e cabeça pardacentas. Na fase de desenvolvimento larval, ocorrem as maiores injúrias no fruto de café (FERNANDEZ; CORDERO, 2007). Na fase de pré-pupa, observa-se a formação dos primórdios da perna do inseto, à medida que este passa para a fase de pupa (BERGAMIN, 1943). As pupas apresentam, em média, 1,75 mm de comprimento, são de coloração branca e tornam-se marrons com a formação dos apêndices externos dos insetos, indicando que o adulto está prestes a emergir. O adulto recém-emergido apresenta uma coloração marrom, tornando-se negro à medida que atinge a maturidade fisiológica (FERNANDEZ; CORDERO, 2007). A broca permanece na câmara em que emergiu ao lado da exúvia pupal durante três a quatro dias e, em seguida, inicia a atividade sexual (BERGAMIN, 1943).

O inseto adulto apresenta corpo cilíndrico ligeiramente recurvado para a região posterior e coloração preta. Os élitros são revestidos de cerdas e escamas piriformes

características (SOUZA; REIS, 1997). As fêmeas têm um comprimento médio de 1,74 mm, enquanto os machos, 1,24 mm (SILVA, 2009), com a adição de vestígios de asas membranosas, motivo pelo qual são incapazes de voar (BERGAMIN, 1943; GALLO *et al.*, 2002; PICANÇO, 2010). Além disso, as larvas das fêmeas passam por dois instares, e as larvas dos machos, por apenas um (BERGAMIN, 1943).

A longevidade média dos machos varia de 40 a 50 dias, enquanto as fêmeas apresentam um ciclo de vida de 156 dias em média. A proporção sexual é de 1:10 (um macho para 10 fêmeas) (BERGAMIN, 1943). A fêmea adulta perfura o fruto após a floração, na fase de chumbinho (outubro/dezembro), geralmente na região da coroa (SPONAGEL, 1994; PICANÇO, 2010); ela faz uma galeria, formando uma pequena câmara na qual deposita de 12 a 18 ovos, em média. A fêmea pode continuar ovipositando em outros frutos durante 30 dias, depositando em torno de 31 a 119 ovos. Após 4 a 10 dias, eclodem as larvas, que se alimentam dos grãos e expandem as galerias. No total, pode haver de quatro a sete gerações por ano (GALLO, 1988).

O sistema de cultivo e o uso de métodos de controle alternativo e cultural, como colheita e podas, podem sofrer influência do preço do café no mercado, podendo acarretar um rápido crescimento populacional da broca. No sistema de cultivo adensado (8.000 a 10.000 plantas.ha⁻¹), o microclima é de alta umidade, conferindo à broca condições ótimas para seu desenvolvimento (PELLEY, 1968).

A biologia da broca-do-café apresenta grandes desafios para a implementação de programas de manejo de pragas. Trata-se de uma espécie críptica, passando seu ciclo de vida (ovo a adulto) dentro do fruto do café, que envolve desde a postura dos ovos até o surgimento das fêmeas adultas no fruto. Além disso, o ciclo dessa praga é multivoltino, com sobreposição de gerações, o que resulta na presença de indivíduos de diferentes idades dentro do mesmo fruto (BAKER *et al.*, 1992).

Para tanto, Ferreira *et al.* (2003) observaram que o controle cultural da praga se dá principalmente pela execução de uma boa colheita, de forma criteriosa, evitando deixar frutos remanescentes para que não sejam portadores de indivíduos para o desenvolvimento do próximo ciclo da praga. Em suas pesquisas, Souza *et al.* (2012) mencionaram que o controle da broca-do-café deve ser iniciado quando a infestação atingir entre 3% e 5% da lavoura, sendo aplicado nas partes mais atacadas e apenas nos talhões em que a infestação da praga já tenha atingido os níveis de controle. Dessa forma, evitam-se os problemas de desequilíbrio relacionados ao uso de inseticidas químicos. Entretanto, o controle da broca ainda depende muito da aplicação de pesticidas, que apresentam limitações devido aos efeitos adversos à

saúde humana e ao meio ambiente (FFRENCH-CONSTANT; STEICHEN; BRUN, 1994; NASCIMENTO; MELNYK, 2016).

2.3 Controle químico de *H. hampei*

Os produtos químicos mais utilizados para o controle da *H. hampei* eram o Endossulfan[®] e o Clorpirifos[®], sendo o primeiro com eficiência acima de 90% (ANDREI, 2005); porém, apresentou-se mais persistente no ambiente, com grande potencial de impacto. Dessa forma, desde 2013, o Endossulfan[®] tem sua utilização proibida na agricultura, e, devido à falta de moléculas eficientes no controle, a praga apresentou rápido crescimento populacional, ocasionando grandes prejuízos (SOUZA *et al.*, 2012).

Os inseticidas clorantraniliprole, fipronil e thiametoxam têm se mostrado eficientes para o controle da broca (COSTA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2012), sendo os dois últimos não registrados ou em fase de registro específico para essa praga. Assim sendo, Reis (2007) analisou tratamentos para controle de *H. hampei* em condições de campo realizados nos últimos 30 anos, nos quais foram testados alguns produtos, entre eles fipronil (fenil-pirazol) (SOUZA; REIS, 2000), methiocarb (carbamato) (MATIELLO, 1991), thiaclopir (neonicotinoide) (LUCAS; LUCAS, 2001) e Endossulfan[®] (ciclodieno) (NAKANO; SAZAKI; GRAVA, 2004).

Segundo Miranda (2009), a eficiência dos produtos está relacionada com a arquitetura da planta e a densidade foliar, que se tornam obstáculos para que a calda de aplicação alcance seu alvo no interior da planta. Corroborando, Thomaziello (2001) afirmou que plantações adensadas e sombreadas favorecem a população da praga. Com o adensamento da cultura, a colheita geralmente não é bem executada, e a distribuição dos inseticidas na planta pode não ser eficaz, impedindo uma boa ação.

Atualmente, encontram-se registrados 22 pesticidas para o controle da broca-do-café: Alverde[®] (metaflimizona: semicarbazone); Azamax[®] (azadiractina: tetranortriterpenóide); Benevia[®] (ciantraniliprole: antranilamida); Chloromo[®] 480 EC; Chlorsab[®] 480 EC; Clorpirifós Fersol[®] 480 EC; Clorpirifós Sabero[®] 480 EC; Clorpirifós Poland[®] 480 EC; Klorpan[®] 480 EC; Lorsban[®] 480 BR; Pyrinex[®] 480 EC; Vexter[®]; Wild[®] (clorpirifós: organofosforado); Curbix[®] 200 SC (etiprole: fenilpirazol); Instivo[®] (abamectina: avermectina) + (clorantraniliprole: antranilamida); Prez[®]; Sperto[®] (acetamiprido: neonicotinoide) + (bifentrina: piretroide); Tracer[®] (espinosade: espinosinas); Trebon[®] 100 SC (etofenproxi: éter difenílico); Verimark[®] (ciantraniliprole: antranilamida); Verismo[®] (metaflimizona:

semicarbazone); e Voliam Targo[®] (abamectina: avermectina) + (clorantraniliprole: antranilamida) (AGROLINK, 2019).

Recomenda-se que, mesmo após o controle, o monitoramento do inseto na lavoura deva continuar. Além disso, quando a infestação atingir o nível de controle, deve-se pulverizar o inseticida novamente, respeitando seu período de carência (REIS, 2007). No entanto, vale um alerta quanto ao uso abusivo desses produtos, pois podem provocar desequilíbrios ecológicos e danos a recursos naturais e hídricos (BEZERRA; VEIGA, 2000).

Controlar esse inseto-praga tem sido um desafio para os cafeicultores, o que torna maior a busca por métodos de controle alternativo, principalmente que atuem de forma integrada. Observando ainda o alto custo desses produtos e dos equipamentos utilizados, bem como os riscos de aplicação, a utilização do método químico de controle é limitada, principalmente para pequenos agricultores. Consequentemente, o desenvolvimento de alternativas de controle é altamente desejável.

2.4 Controle alternativo de *H. hampei*: inseticidas botânicos

Uma das formas de controlar a broca-do-café sem a utilização do controle químico é a adoção de métodos alternativos, como controle biológico e uso de substâncias naturais. Entretanto, a utilização de produtos alternativos tem crescido vagarosamente, apesar de as pesquisas terem se intensificado. Por outro lado, Nascimento (2011) menciona que nenhum método é eficaz por si próprio, sendo então necessária uma abordagem com visão integrada para uma melhor compreensão da planta e das mudanças climáticas, as quais poderão alterar a dinâmica populacional de insetos-praga.

Uma das alternativas é a utilização do controle biológico, que pode empregar microrganismos naturalmente existentes no ecossistema em baixa prevalência. Para o controle da broca-do-café, pode-se utilizar o fungo *Beauveria bassiana* (NEVES; HIROSE, 2005). De acordo com Rosa *et al.* (2000), deve existir uma população de inóculo suficiente para induzir o processo de colonização no indivíduo. É necessária a seleção de isolados de fungos entomopatogênicos mais virulentos, adaptados ao inseto, visto a grande variabilidade genética existente (NEVES; HIROSE, 2005). Para o controle da broca-do-café pelo fungo *B. bassiana*, têm-se alguns produtos registrados: Boveril WP[®] PL63, registro nº 4902; Bouveriz[®] WP Biocontrol, registro nº 13311; Granada[®], registro nº 9815; e Ballvéria[®], registro nº 7312.

A busca por novos compostos com ação inseticida constitui-se em um vasto campo de investigação. A enorme oferta e a variedade de substâncias presentes na flora despertam grande atenção no controle de insetos, por possuírem componentes bioativos para tal fim (VIEIRA; FERNANDES, 1999). Assim, os inseticidas botânicos surgem como uma nova possibilidade de uso em programas de manejo de pragas. São produtos derivados de substâncias com ação inseticida e/ou acaricida. Esses compostos podem ser obtidos de partes de plantas por meio de prensa, destilação ou moagem (FÜLLER, 2008).

Por exemplo, alguns óleos essenciais apresentam ações sobre os insetos, tanto por contato como por ingestão, podendo causar repelência, redução na reprodução e inibição do crescimento (PARK *et al.*, 2003; NEGAHBAN; MOHARRAMIPOUR, 2007; BENZI; STEFANAZZI; FERRERO, 2009). Segundo Santos *et al.* (2013), os óleos essenciais são misturas de substâncias complexas voláteis, lipofílicas, geralmente líquidas e odoríferas e de aparência oleosa na temperatura ambiente. Possuem também intenso e agradável aroma, característico dos óleos voláteis, razão de serem denominados como essências.

A planta conhecida como nim (*A. indica*) tem compostos com ação inseticida e repelente, tendo sido estudada para o controle de *H. hampei* por vários pesquisadores, dentre eles Depieri e Martinez (2010). Dentre os componentes ativos isolados de *A. indica*, destacam-se gedunina, meliantrol, salanina, nimbinem, dacetilsalanina, nimbolina e tetranortriterpenoide azadiractina, sendo este último o mais ativo biologicamente. Apresenta efeito regulador de crescimento e deterrente alimentar (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000), redução da fecundidade e fertilidade, repelência e efeito inseticida (SCHMUTTERER, 1995). Martinez (2002) constatou que o óleo cru de nim contém 0,1% de azadiractina (1.000 ppm).

De acordo com Depieri *et al.* (2003), o nim não provoca a morte imediata dos insetos, mas reduz ou interrompe a alimentação, retarda ou interrompe a fagocitose ou o desenvolvimento do inseto, repele os adultos, reduz a postura de ovos ou causa a inviabilidade deles e prejudica a reprodução final de *H. hampei*. Esses autores utilizaram extrato aquoso de sementes de nim nas concentrações de 1%, 2% e 4% na calda de aplicação e obtiveram uma redução na infestação de frutos no campo de 30,9%, 38,3% e 70,2%, respectivamente.

Em consonância, Depieri e Martinez (2010) sugerem que a pulverização do óleo emulsionável de nim e do extrato de folhas e sementes pode levar os insetos à morte por contato. Também a ingestão da parte externa dos frutos contaminados pode causar repelência e morte dos indivíduos restantes, resultando em níveis mais baixos de penetração pela broca

nos frutos de café. Além disso, a pulverização do óleo de nim pode causar a morte da broca-do-café dentro do fruto, reduzindo futuras infestações.

Em seus estudos, Sponagel (1994) obteve 26% de mortalidade da broca-do-café dentro de frutos após pulverizar uma emulsão aquosa de óleo de nim contendo 10 mg.L⁻¹ de azadiractina por três vezes em condições de campo. Além disso, Depieri e Martinez (2010) utilizaram o mesmo tratamento com óleo de nim, enriquecido com 50 mg.L⁻¹ de azadiractina sintética, e observaram 65% de mortalidade de adultos dentro dos frutos.

Os derivados do nim apresentam efeito em várias classes de pragas, como *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Liriomyza sativae* (Blanchard, 1938) (Diptera: Agromyzidae), *Spodoptera* spp. (Walker, 1858), *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Aculops lycopersici* (Masse, 1937) (Trombidiformes: Eriophyidae), afetando cerca de 400 espécies de insetos pertencentes às ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera, ácaros e nematoides (MARTINEZ, 2002). Martinez e Meneguim (2003) demonstraram em laboratório os efeitos do óleo e dos extratos de nim em *L. coffeella*, uma importante praga do cafeeiro. Obtiveram uma redução de 77% a 89% no número de lagartas, utilizando soluções de óleo emulsionável de nim a 0,125% e 0,25%, respectivamente.

A Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (2014), por meio da Resolução nº 665, de fevereiro de 2014, denomina comumente a *A. indica* como nim ou neem, que origina um óleo de sementes prensadas a frio, do grupo químico dos triterpenoides, na forma de concentrado emulsionável (CE), com padrão de referência separado nos seguintes princípios ativos:

- azadiractina A, nº CAS: 11141-17-6, fórmula bruta C₃₅H₄₄O₁₆, massa molecular 720,7 g.mol⁻¹.
- azadiractina B (3-Tigloyl-azadirachtol), nº CAS: 106500-25-8, fórmula bruta C₃₃H₄₂O₁₄, massa molecular 662,69 g.mol⁻¹.

Apresenta relação planta/extrato de 100:7,7, sendo o marcador fitoquímico a concentração máxima de azadiractina A a 0,3 % (3 g kg⁻¹), com classificação toxicológica Classe II; logo, é altamente tóxico, devido ao teste de concentração letal (CL₅₀) inalatória, e classificado agronomicamente como inseticida. Além disso, os compostos da planta de nim destacam-se por possuírem alto potencial de controle de pragas e baixo impacto ambiental (DL₅₀ > 5.000 mg.g⁻¹) (MARTINEZ, 2002).

Em suas pesquisas, Martinez (2002) observou que a aplicação de óleo emulsionável composto por azadiractina a 5 mL.L^{-1} sobre adultos das joaninhas *Cycloneda sanguinea* e *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), descritas por Guérin-Ménéville em 1842, não causou mortalidade. O autor ainda afirmou que a azadiractina atua melhor por ingestão do que por contato, fazendo com que os predadores recebam doses mais baixas por não se alimentarem das plantas tratadas. Ademais, as presas excretam em torno de 90% do composto ingerido em um período de 7 a 24 horas. Os modos de ação são imediatos após a aplicação, principalmente no que se refere às funções biológicas e fisiológicas do inseto, embora a morte possa não ocorrer em poucas horas (WIESBROOK, 2004).

Para aumentar a ação no controle de pragas, utiliza-se a associação de inseticidas botânicos com outros compostos, dentre os quais destacam-se o D-limoneno e o linalol, cujo registro pertence à *United States Food and Drug Administration* (FDA) (WIESBROOK, 2004).

O D-limoneno é uma substância da família dos terpenos, classe dos monoterpenos, de fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$, massa molecular $136,24 \text{ g.mol}^{-1}$, nº de CAS 5989-27-5 (PAKDELA; PANTEAA; ROY, 2001). É extraído da casca de citrinos na forma de óleo essencial e tem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e calmantes.

O Linalol é um óleo monoterpene alcoólico terciário acíclico extraídos de várias plantas da flora brasileira, dentre eles a tangerina (*Citrus reticulata*) e a bergamota (*Citrus bergamia*). Possui peso molecular de $154,25 \text{ g/mol}$, densidade de $0,862 \text{ g/mL}$ e fórmula $(\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O})^{3,10}$, apresentando odores distintos com diferentes propriedades químicas e efeitos biológicos, atuando no sistema nervoso central reduzindo a eficácia neuromuscular (PEANA *et al.*, 2004).

Ambas substâncias (D-limoneno e o linalol) possuem atividade fumigante e ação de contato neurotóxico, causando uma hiperexcitabilidade que leva a convulsão e paralisia. No entanto, evaporam rapidamente de superfícies, apresentando período residual muito curto e diminuindo o contato com o inseto (AGUIAR-MENEZES, 2005). Esses extratos são rapidamente degradados por luz solar, chuva, umidade, ar e enzimas desintoxicantes, o que significa baixa persistência ou nenhum poder residual. Essa característica confere uma possibilidade menor de as pragas desenvolverem resistência e alta seletividade, reduzido risco para inimigos naturais (herbivoria) e baixa fitotoxicidade. Em razão de seu amplo espectro de ação, que permite o controle de diferentes pragas e a preservação de inimigos naturais, esse óleo foi adicionado à fórmula proposta neste estudo, conforme exposto na metodologia.

Por um lado, os inseticidas botânicos apresentam algumas restrições ou dificuldades, como o custo, a disponibilidade e a necessidade de substâncias sinérgicas. Por outro lado, eles podem estar relacionados a diferentes funções na interação da planta com o ambiente, como na defesa contra herbivoria e patógenos, na competição entre plantas e na atração de organismos benéficos, como polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiotes (SANTOS *et al.*, 2013). Um exemplo típico são as interações alelopáticas das plantas, podendo citar os alomônios, que são mensagens químicas com vantagem para quem as produz (AGUIAR-MENEZES, 2005). Portanto, os inseticidas botânicos são um vasto campo investigatório para viabilização de seu emprego em programas de manejo de *H. hampei* (MOREIRA, 2007), pois apresentam baixo impacto ambiental em virtude de sua rápida degradação no ecossistema, sua alta especificidade e o modo de ação sobre os insetos.

2.5 Biossorventes

As substâncias sinérgicas têm sido testadas intensamente com os inseticidas botânicos, com destaque para a utilização de complexos húmicos, algas e nutrientes, como cálcio, magnésio, potássio e carbono orgânico. Essas substâncias com ações modificadoras e protetoras são denominadas biossorventes e são responsáveis pela diminuição da degradação dos compostos químicos botânicos provocada pelas longas exposições ao sol e altas temperaturas em condição de cultivo (ARTHURS; LACEY; BEHLE, 2006).

As substâncias húmicas concedem grande poder de complexação a outras substâncias, promovendo melhor e maior estabilidade aos seus compostos e associando-se em estruturas complexas mais estáveis, de coloração escura e elevado peso molecular. São separadas com base em características de solubilidade (RIBEIRO; MENDONÇA, 2007; TROEH; THOMPSON, 2007), como os exemplos a seguir:

- ácidos húmicos: fração escura e solúvel em meio alcalino, precipitando-se em forma de produto escuro e amorfo em meio ácido. Quimicamente complexos, são formados por polímeros aromáticos e alifáticos com elevado peso molecular e grande capacidade de troca catiônica. Têm a capacidade de combinar-se com elementos metálicos, formando humatos;
- ácidos fúlvicos: fração colorida que se mantém solúvel em meio alcalino ou em meio ácido diluído, sendo quimicamente constituída sobretudo por polissacarídeos,

aminoácidos e compostos fenólicos. Apresentam um alto conteúdo de grupos carboxílicos e têm a capacidade de combinar-se com óxidos de ferro e alumínio, argilas e outros compostos orgânicos. Possuem propriedades redutoras e formam complexos estáveis com ferro, cobre, cálcio e magnésio (SANTOS; CAMARGO, 1999);

- ácidos hmatomelânicos: fração dos ácidos húmicos solúveis em álcool.

A estrutura das algas, por sua vez, fornece substâncias com ação inseticida, sejam elas originadas por compostos ou por assimilação de nutrientes de cálcio, magnésio e potássio. Souza *et al.* (2014) mencionaram o controle de *Planococcus citri*, Risso 1813 (Hemiptera: Pseudococcidae), utilizando produtos à base de algas marinhas.

Em seus estudos, Dureja e Johnson (2000) destacaram que o uso de inseticidas à base de azadiractina pode ser limitado pela sensibilidade ao pH do composto e por sua suscetibilidade à degradação na presença de luz, limitando sua utilização na agricultura. Para tanto, Flores-Céspedes *et al.* (2015) mencionaram o uso de bioissorventes como agentes modificadores não só para controlar a taxa de liberação de azadiractina, mas também para estabilizar esse inseticida botânico contra a degradação, devido à capacidade de interação entre as moléculas orgânicas.

Portanto, a utilização de sinérgicos com os inseticidas botânicos pode aumentar a eficiência dos compostos em condição de campo, aumentando seu espectro de ação e manutenção com baixo impacto ambiental.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da formulação de um inseticida botânico para controle de *H. hampei* em condições de laboratório e campo na cultura do cafeeiro, além de identificar os ácidos graxos constituintes do óleo de nim (*A. indica*).

3.2 Objetivos específicos

- Selecionar uma ou mais substâncias, considerando sua toxicidade para a broca-do-café, estabelecendo uma escala de eficácia em função da mortalidade, e determinar a CL₅₀;
- Determinar a formulação de um inseticida botânico para controle de *H. hampei*;
- Avaliar a ação inseticida da formulação em insetos adultos de *H. hampei* em ambiente controlado;
- Avaliar a eficácia de controle de *H. hampei* em condições de campo, utilizando os resultados dos testes de laboratório e correlacionando-os com os resultados dos índices de infestação na cultura;
- Estabelecer a aplicabilidade do inseticida botânico para controle de *H. hampei*, utilizando os dados de concentração, intervalo e forma de aplicação; e
- Identificar os ácidos graxos constituintes do óleo de nim por espectrometria de massa com cromatografia a gás.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Testes em laboratório

4.1.1 Obtenção dos indivíduos adultos de *H. hampei*

Frutos de café brocados foram coletados de plantas do cultivar Mundo Novo IAC 379-19, com sete anos de plantio, em diferentes estágios de maturação, numa propriedade rural denominada Gavião (18° 54' 41,24" S e 46° 56' 55,72" W), no município de Patrocínio/MG. Posteriormente, os frutos foram levados para o Laboratório de Genética, Bioquímica/Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Monte Carmelo.

Os insetos adultos de *H. hampei* foram obtidos por parcelamento dos frutos e colocados em recipientes plásticos de medidas 30 x 30 x 8 cm (FIGURA 1), dotados de pequenos orifícios para circulação de ar em seu interior e na parte de baixo do recipiente e com uma tela de tecido poliéster (*voil*), com manutenção da umidade por meio da pulverização com água destilada, sem a presença de papel-filtro para absorção. Os recipientes foram fechados e acomodados em câmara climática, em escuro total, a 25 ± 2 °C, até sua utilização.

Figura 1 – Recipiente plástico, de medidas 30 x 30 x 8 cm, utilizado para manutenção de *Hypothenemus hampei* em laboratório



Legenda: **A:** vista superior. **B:** vista lateral.
Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Indivíduos adultos, machos e fêmeas, foram coletados utilizando-se um pincel nº 10 Castelo C250[®], para evitar possíveis lesões aos insetos. Eles foram separados em placa de Petri 9 cm para utilização nos testes em laboratório.

4.1.2 Determinação da CL₅₀ das substâncias selecionadas para controle de *H. hampei*

Com o intuito de testar a CL₅₀ previamente estimada para as substâncias empregadas na formulação, foram utilizados 600 indivíduos adultos de *H. hampei*, subdivididos em seis dosagens, em 10 repetições com 10 indivíduos cada, mantidos em placas de Petri 9 cm, contendo papel-filtro Inlab[®] (tipo 10, com porosidade de 3,0 µm). Foi pulverizado um volume de 0,15 mL, utilizando-se um pulverizador manual de 1,5 litros (Modelo Vonder[®]-6240000150), de cada substância nas concentrações indicadas na Tabela 1, totalizando oito substâncias, e cada uma foi considerada um tratamento. Como controle, foi utilizada água destilada estéril. As placas foram fechadas com Parafilm[®] e incubadas em BOD (*bio-oxygen demand*), na ausência de luz e mantidas em temperatura de 25 ± 2°. Foi registrado o número de indivíduos mortos a cada seis horas durante 48 horas, sendo avaliada a porcentagem de mortalidade confirmada para cada substância.

Tabela 1 – Classe, origem e concentração (%) das substâncias utilizadas nos ensaios para controle de *Hypothenemus hampei*

Elemento	Classe	Origem	Concentração avaliada %
Óleo de Nim	Botânico	<i>Azadirachta indica</i>	0; 10; 12,9; 15; 20; 25
D-limoneno	Botânico	<i>Citrus</i>	0; 5; 6,9; 10; 15; 20
Extrato húmico total	Biossorvente	Turfa	0; 5; 8,5; 10; 15; 20
Carbono orgânico	Biossorvente	Alga/Turfa	0; 5; 8,5; 10; 15; 20
Potássio	Nutriente	Fertilizante	0; 25; 30; 37,5; 40; 45
Cálcio	Nutriente	Alga/ <i>Lithothamnium</i>	0; 10; 14; 16,7; 18; 20
Magnésio	Nutriente	Alga/ <i>Lithothamnium</i>	0; 10; 14; 16,7; 18; 20
Enxofre	Nutriente	Fertilizante	0; 4; 6,25; 10; 15; 20

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Com os resultados obtidos, foram preparadas escalas de eficácia das substâncias em relação à mortalidade ocasionada pela CL₅₀ com a finalidade de selecionar aquelas mais adequadas aos objetivos do trabalho e, posteriormente, formular o composto e continuar os testes. Para o cálculo da CL₅₀ de cada substância, foi utilizado o modelo *probit regression* para avaliação de probabilidade e, posteriormente, múltipla regressão com intervalo de confiança ($p \leq 0,05$) em ambos os testes, utilizando-se o programa Statistica 13.3

(STATISTICA, 2017). Pacheco e Rebelo (2013) utilizaram a denominação *probit* para expressar a unidade de probabilidade baseada no desvio da média de uma distribuição padrão. No entanto, as variáveis do estudo se expressam qualitativamente (morto ou vivo) ou quantitativamente. A transformação denomina a posição da variável discreta (qualitativa) na variável imaginária, subjacente contínua (quantitativa), para calcular a concentração de substância que afetaria 50% da população de *H. hampei* exposta ao CE_{50} , cujo efeito passa a ser denominado de CL_{50} caso seja letal. Essa função fornece a CL desejada por meio de modelos lineares generalizados (McCULLAGH; NELDER, 1989) com a família binomial (*probit*), utilizando o modelo $\eta_i = \beta_0 + \beta_1 \chi_i$, em que η_i é a resposta transformada (proporção de mortos) pelo *probit* padrão, β_0 é a interceção, β_1 é o coeficiente da dose e χ_i é a dose observada para experimento.

4.1.3 Avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de *H. hampei*

A formulação utilizada neste estudo foi pré-determinada pelos resultados dos testes de determinação de CL_{50} das substâncias selecionadas para controle de *H. hampei*. As avaliações foram realizadas em dois ensaios distintos, sendo o primeiro com aplicação da formulação sobre o papel-filtro, que posteriormente foi colocado em contato com o inseto, e o segundo com aplicação tópica no torso do inseto (tarsal). Em ambos os ensaios, foram utilizados 0,15 mL da formulação em pulverizador manual de 1,5 L (Modelo Vonder® – 6240000150), em placas de Petri de 9 cm.

No primeiro ensaio, foram avaliadas seis diferentes concentrações da formulação (0,50%; 0,62%; 0,75%; 0,87%; 1,0%; e 1,12%), as quais foram pulverizadas sobre o papel-filtro, com a adição de 10 insetos adultos em cada, sendo quatro repetições para cada tratamento.

No segundo ensaio, foram avaliadas quatro diferentes concentrações da formulação (0,62%; 0,75%; 0,87%; e 1%) em aplicação direta sobre os insetos adultos (aplicação tópica no torso), utilizando 10 indivíduos adultos, em cinco repetições para cada tratamento. Como controle dos ensaios, foi utilizada água destilada estéril.

Todas as placas foram fechadas com Parafilm® e incubadas em BOD, na ausência de luz, e mantidas em temperatura de 25 ± 2 °C. Foi registrado o número de indivíduos mortos em 24 horas, 24-48 horas e 48 horas após as pulverizações. Os valores da mortalidade foram corrigidos utilizando a fórmula de Abbott (1925), descrita a seguir:

$$Mc = (Mo - Mt)/(100 - Mt) \times 100, \quad \text{em que:}$$

Mc = mortalidade corrigida em função do tratamento testemunha;

Mo = mortalidade observada no tratamento com a formulação inseticida; e

Mt = mortalidade observada no tratamento testemunha.

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de variância pelo programa Sisvar, versão 5.6, utilizando o teste de regressão linear após observar os pressupostos de normalidade, linearidade, independência dos erros e homocedasticidade pelo programa Action (ACTION, 2014), utilizando o intervalo de confiança $p \leq 0,05$.

4.1.4 Identificação dos ácidos graxos constituintes do óleo de nim

A identificação dos ácidos graxos constituintes do óleo de nim foi realizada no Laboratório de Química da UFU, Campus Santa Mônica. O óleo de nim foi analisado por espectrometria de massa com cromatografia a gás, segundo metodologia de Reifenrath *et al.* (2012). O material (0,02 g) foi dissolvido em metanol-HCl 37% -CHCl₃ (1 mL: 8 mL: 40 mL) durante uma hora. O solvente foi removido sob fluxo de nitrogênio e dissolvido em 150 µL de CHCl₃ e 40 µL de BSTFA. Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa em espectrometria de massa GC-MS (Shimadzu, modelo QP2010), usando uma coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm, Agilent J & W), com hélio como gás carreador a uma vazão de 1 mL.min⁻¹. As temperaturas do detector e do injetor foram de 220 °C e 240 °C, respectivamente. O volume de injeção foi de 1 µL, e a razão de divisão foi de 1:20. A temperatura do forno foi programada para 60 a 240 °C a 3 °C.min⁻¹. A energia de impacto do elétron foi de 70V, e os fragmentos foram coletados a 40 a 650 m/z. As identidades dos ácidos graxos foram atribuídas por comparação dos espectros de massa (MS) com uma base de dados espectral de massa (*Wiley Registry of Mass Spectral Data* e/ou *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library*).

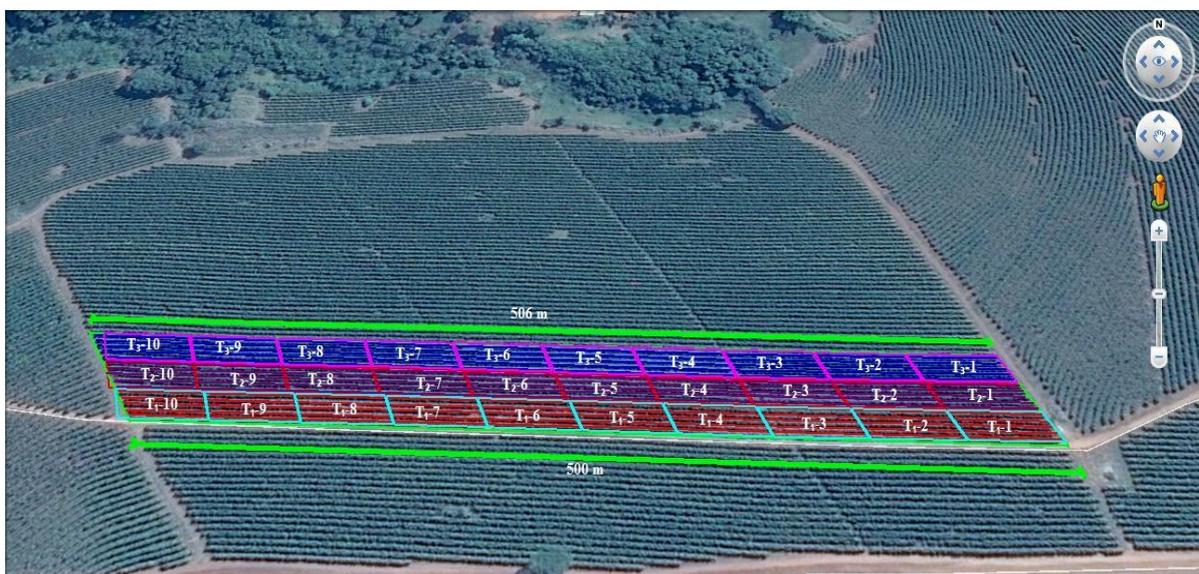
4.2 Testes em campo

Para a avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de *H. hampei* em condições de campo, foi utilizado o inseticida botânico composto por óleo de nim, (azadiractina) obtido da planta *A. indica*, óleo de laranja (D-limoneno), obtido da planta

Citrus sp., bioissorventes e nutrientes, cuja formulação encontra-se na Tabela 1. Como inseticidas químicos, foram utilizados 1 L de Voliam Targo® (abamectina 18 g/L + clorantianiliprole 45 g/L, Syngenta) e 1 L de Lorsban® 480 BR (Clorpirifós 480 g/L, Dow AgroSciences) em três aplicações.

Os testes foram realizados na fazenda Araras (18° 72' 04,87" S e 47° 53' 58,28" W), localizada no município de Monte Carmelo, em cafeeiros adultos com 13 anos de idade, cultivar Topázio MG-1190, em uma área total de três hectares (FIGURA 2).

Figura 2 – Apresentação das parcelas do ensaio de campo no município de Monte Carmelo/MG



Fonte: Google (2017).

Foram realizadas quatro aplicações da formulação botânica a cada 20 dias. O delineamento experimental foi em faixas, com três tratamentos (inseticida botânico, inseticidas químicos e água), com 10 repetições cada, totalizando 30 parcelas de 50 metros cada (FIGURAS 2 e 3). O modelo matemático utilizado para a aplicação da ANOVA foi o mesmo utilizado no DIC, ou seja, $Y = \mu_i + t + e$, em que todos os testes das hipóteses estatísticas foram realizados e aprovados.

Os testes de campo foram iniciados 57 dias após a floração do cafeeiro, na terceira fase, no segundo ano fenológico, especificamente na expansão dos frutos (CAMARGO; CAMARGO, 2001), com a amostragem da ocorrência natural do inseto, a qual se mostrou acima de 3%. O levantamento inicial da praga foi realizado em 11 de dezembro de 2017, por meio da análise dos frutos secos da safra 2016-2017 (FIGURA 4), coletados em 20 plantas a partir do centro de cada parcela, sendo 10 plantas em cada direção.



Figura 3 – Etapas de execução e separação de parcelas para teste no campo e demarcação da área experimental

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Figura 4 – Coleta de frutos secos para avaliação inicial de infestação de *Hypothenemus hampei*. A: Coleta dos frutos. B: Visualização dos frutos



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

As pulverizações foram iniciadas em 14 de dezembro de 2017, 60 dias após a floração do cafeeiro, na expansão dos frutos, totalizando quatro aplicações intervaladas a cada 20 dias, com término na quarta fase fenológica, no final da granação do fruto, em 16 de fevereiro de 2018, totalizando 64 dias. Foi utilizado, para aplicação, o pulverizador jacto Arbus 2000[®], com bicos do modelo Jacto JA-2[®] (FIGURA 5), cone vazio, ângulo de aplicação 80°, com vazão de calda de aplicação em 400 L.ha⁻¹.

Figura 5 – Preparo e pulverização dos produtos nas parcelas



Legenda: **A:** Vista da fixação do papel sensível no interior da cultura. **B:** Visualização da qualidade do alvo de aplicação (87% de cobertura). **C:** Início da aplicação nas parcelas. **D:** Final da aplicação nas parcelas.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Os dados foram coletados a cada 15 dias, começando na expansão dos frutos em 29 de dezembro de 2017, totalizando cinco avaliações, e terminando no final da granação dos frutos, em 12 de março de 2018 (92 dias). Foram realizadas amostragens de grãos em formação nos ramos plagiotrópicos no terço médio das plantas. As coletas foram realizadas em 20 plantas a partir do centro de cada parcela, sendo 10 plantas em cada direção. Coletaram-se, em média, 500 frutos ao acaso em cada parcela e avaliou-se a quantidade de grãos brocados por amostra, a fim de mensurar a porcentagem de ataque e incidência do inseto-praga.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância das médias por meio do teste Tukey, observando-se os pressupostos de normalidade, linearidade, independência dos erros e homoscedasticidade, com o objetivo de avaliar as médias de ataque e incidência do inseto-praga. A análise estatística foi realizada utilizando-se os programas Sisvar, versão 5.6

(FERREIRA, 2011) e Action (ACTION..., 2014), sendo observado o intervalo de confiança de 1%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Testes em laboratório

5.1.1 Determinação da CL_{50} das substâncias selecionadas para controle de *H. hampei*

Com relação à determinação da CL_{50} para *H. hampei* com relação aos compostos utilizados na formulação do inseticida botânico (TABELA 2), verificou-se que o óleo cru de nim possui valor de letalidade ou imobilidade de 6.632 mg.g^{-1} , com valor de $p = 0,002448$, com r^2 de 79%, obtido por meio do teste modal não linear. Esse valor apresenta proximidade com os encontrados por Martinez (2002) com o $CL_{50} > 5000 \text{ mg.g}^{-1}$.

Tabela 2 – Concentração letal média (CL_{50}) das substâncias presentes no inseticida botânico para controle de *Hypothenemus hampei*

Composto	Nº de indivíduos	$CL_{50} \text{ mg.g}^{-1}$	-95,0% CL_{50}	+95,0% CL_{50}	R^2	Valor de p	Previsto (r^2)
<i>Azadirachtina</i> (nim – óleo cru)	600	>6632,0	2953,9	10310,1	0,62	0,002448	0,79
Nutrientes	600	>74550,0	48666,5	100433,5	0,80	0,000077	0,90
Enxofre	600	>19687,5	2803,2	36571,7	0,40	0,026579	0,64
Substâncias húmicas	600	>23400,0	5278,8	41521,2	0,45	0,016464	0,67
D-limoneno	600	>51210,0	8658,1	93761,8	0,42	0,023033	0,65
Extrato de algas	600	>6837,1	2671,9	10181,81	0,62	0,002448	0,78

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Também foi observado que o D-limoneno apresentou $CL_{50} > 51.210 \text{ mg.g}^{-1}$, com valor de $p = 0,023033$ e r^2 0,65%. De acordo com Buss e Park-Brown (2002), o D-limoneno apresenta baixa toxicidade oral e dérmica, em função da rápida evaporação dos seus compostos.

As substâncias húmicas demonstraram valor da $CL_{50} > 23.400 \text{ mg.g}^{-1}$ e r^2 de 67%. O enxofre utilizado no composto apresentou $CL_{50} > 19.687 \text{ mg.g}^{-1}$, com r^2 de 64%. Os nutrientes apresentaram $CL_{50} > 74.550 \text{ mg.g}^{-1}$, indicando baixa letalidade ao inseto. No entanto, sua utilização como agente potencializador favorece a ação das substâncias botânicas.

Estudos propostos por Adjalle *et al.* (2009) e Song *et al.* (2006) demonstraram que nutrientes adicionados às formulações propostas geraram um aumento da fotoestabilização de 14 a 41 horas e da semivida de dissipação entre 20 e 21 horas, melhorando a homogeneidade do composto.

Como mencionado por Adjalle *et al.* (2009), as substâncias acrescentadas à formulação são utilizadas como elementos complexantes, pois os nutrientes e as substâncias húmicas, mesmo apresentando baixa letalidade ao inseto, aumentam o período de ação do inseticida botânico. Santos e Camargo (1999) afirmaram que substâncias húmicas com propriedades redutoras formam complexos estáveis com ferro, cobre, cálcio e magnésio.

Os resultados apresentados na Tabela 2 expressam uma $CL_{50} > 6.837,1 \text{ mg.g}^{-1}$ para o extrato de algas, destacando-se em relação aos demais compostos, com uma letalidade próxima à do óleo de nim. Conforme Souza *et al.* (2014) demonstraram, um produto natural, à base de algas marinhas, apresentou eficiência no controle de *P. citri*, sendo que, na menor dosagem utilizada (87,5 mL), ocasionou mortalidade de 100% de ninfas e 94% de fêmeas adultas, corroborando os resultados apresentados neste trabalho. Os autores ainda apontaram um aumento percentual de mortalidade de fêmeas adultas nas dosagens de 175,5 mL e 350 mL, apresentando valores respectivamente de 96% e 98%.

Após a análise dos dados, foi possível a formulação de um inseticida botânico, cuja composição encontra-se descrita na Tabela 3.

Tabela 3 – Formulação do inseticida botânico para controle de *Hypothenemus hampei*

Elemento	Classe	Origem	Concentração na formulação %
Óleo de nim	Botânico	<i>Azadirachta indica</i>	*
D-limoneno	Botânico	<i>Citrus</i>	*
Extrato húmico total	Biossorvente	Turfa	45,00 – 62,50
Carbono orgânico	Biossorvente	Alga/Turfa	28,00 – 33,00
Potássio	Nutriente	Fertilizante	2,00 – 4,00
Cálcio	Nutriente	Alga/ <i>Lithothamnium</i>	0,80 – 1,20
Magnésio	Nutriente	Alga/ <i>Lithothamnium</i>	0,10 – 0,30
Enxofre	Nutriente	Fertilizante	0,10 – 0,35

* Concentração em sigilo.

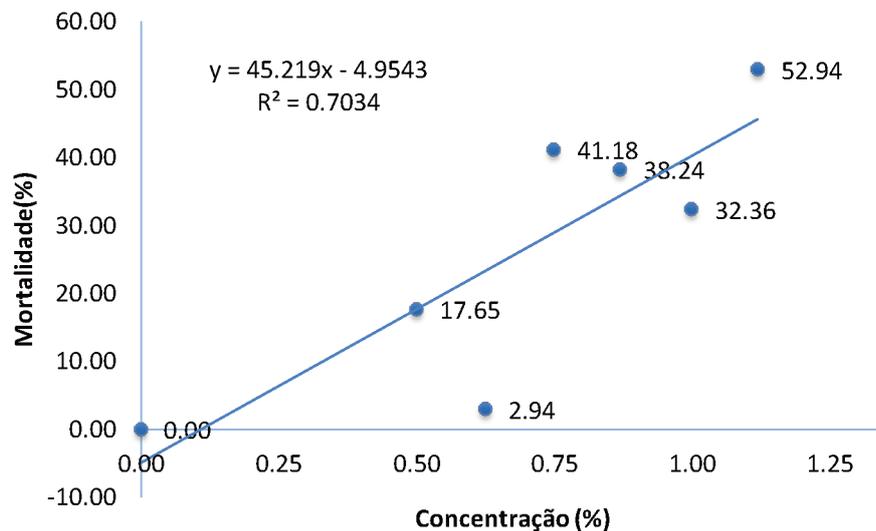
Legenda: Resultado da concentração obtida pela análise de solubilidade de fertilizante líquido em H₂O realizada pelo laboratório Ferlab – laudo 2593/2018, de julho de 2018.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

5.1.2 Avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de *H. hampei*

Os resultados do ensaio de aplicação da formulação de forma indireta sobre os insetos (pulverização sobre o papel-filtro) demonstram que houve mortalidade em todas as concentrações analisadas (0,50%; 0,62%; 0,75%; 0,87%; 1,0%; e 1,12%) após 24 horas de pulverização. No entanto, nas concentrações de 0,75%, 0,87%, 1,0% e 1,12%, ocorreu uma variação de mortalidade em relação ao controle, com valores de 41,18%, 38,24%, 32,36% e 52,9%, respectivamente (FIGURA 6).

Figura 6 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de *Hypothenemus hampei* (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre papel-filtro em placas de Petri, após 24 horas de pulverização, com temperatura 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz ($p = 0,0014$)



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

No entanto, observa-se, de acordo com os testes de regressão, que as concentrações de 0,75% e 1,12% obtiveram índices de controle mais eficientes que as demais. Para tanto, a concentração de 0,75%, que apresentou uma mortalidade total de 41,18%, mostrou-se estatisticamente próxima da mortalidade de 52,9%, observada na concentração de 1,12%. Portanto, essa concentração passou a ser utilizada como referência para os demais testes.

Quando observada a mortalidade no intervalo de 24 a 48 horas, a concentração de 0,75% apresentou ser maior quando comparada à concentração de 1,12%, com médias de 12,16% e 10,39%, respectivamente (FIGURA 7). Já os maiores valores de mortalidade obtidos no tempo total de avaliação (48 horas) foram de 53,33% e 63,34%, também nas

concentrações de 0,75% e 1,12%, respectivamente. Já a dosagem de 0,50% não apresentou mortalidade nesse intervalo (TABELA 4).

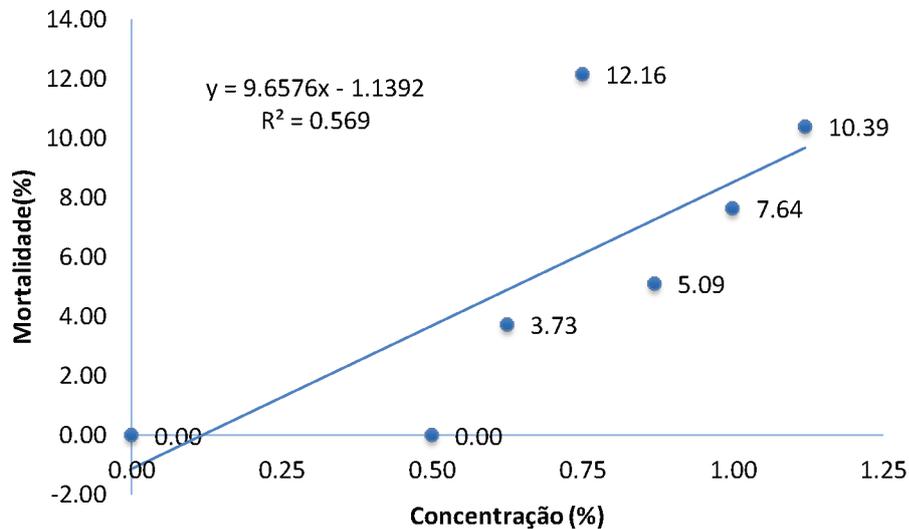


Figura 7 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de *Hypothenemus hampei* (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre papel-filtro em placas de Petri, com 24-48 horas após pulverização, com temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz ($p = 0,02$)

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Alguns trabalhos também demonstraram resultados satisfatórios ao avaliar a eficácia do óleo de nim para o controle da broca-do-café. Consoante sob o mesmo ponto de vista, Irulandi *et al.* (2008) relataram em seus trabalhos em laboratório que o óleo de nim (3%) apresentou (78,67%), sendo superior aos demais tratamentos inclusive ao químico.

Similarmente, Depieri e Martinez (2010) observaram uma mortalidade próxima à que foi apresentada neste trabalho (mortalidade média de 58%), sendo possivelmente causada pela ingestão do óleo botânico (nim) pela praga ao perfurar o fruto, reduzindo o ataque aos frutos a uma ordem de 30 a 42% comparado com o controle. Os autores chegaram a uma mortalidade de 70,7% após cinco dias de contato das brocas com o produto, utilizando a dosagem de 1,5% (azadiractina = 15 mg.L^{-1}). Da mesma forma, Celestino (2014) obteve 40,8% de mortalidade de fêmeas da broca-do-café utilizando inseticida botânico contendo azadiractina a 3,0% v.v⁻¹ sobre papel-filtro após 12 horas da aplicação.

Os resultados do ensaio aqui apresentados mostram que o composto botânico utilizado possui eficiência na indução da mortalidade dos insetos de forma indireta. Sua utilização abre novas perspectivas no controle biológico de pragas. As análises ainda

demonstraram uma maior mortalidade nas 24 horas iniciais em relação à observada no intervalo de 24-48 horas após a aplicação do inseticida botânico (TABELA 4).

Tabela 4 – Efeito do inseticida botânico sobre *Hypothenemus hampei* aplicado em superfície de papel-filtro para avaliar cada concentração dentro de cada período estudado (24 horas, 24-48 horas e 48 horas – somatória dos períodos de avaliação)

Concentração da formulação	Taxa de mortalidade (%)					
	0-24 horas		24-48 horas		Σ 48 horas	
1,12%	52,94	aA	10,39	aB	63,34	aA
1,00%	32,36	abA	7,64	aB	40,00	abcA
0,87%	38,24	abAB	5,10	abB	43,33	abcA
0,75%	41,18	abA	12,16	aB	53,33	abA
0,62%	2,94	bA	3,73	aA	6,67	bA
0,50%	17,65	abA	0,00	abB	17,65	bA
Controle	0,00	b	0,00	b	0,00	c

Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, com probabilidade de 5%.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

É importante ressaltar que os resultados de mortalidade obtidos com 48 horas de exposição não diferiram muito daqueles observados com 24 horas, evidenciando a rapidez da ação inseticida do composto botânico.

A queda na mortalidade dos insetos nas últimas 24 horas de avaliação pode estar relacionada com a alta degradação dos compostos essenciais, cuja volatilidade ocasiona a diminuição dos ativos botânicos. No presente trabalho, foi possível verificar que, durante a aplicação do óleo, houve uma modificação comportamental dos insetos nos primeiros minutos, com intensa agitação, sendo que aparentemente não mantinham o equilíbrio nas primeiras horas de ensaio. Tal fato também foi observado em estudos realizados por Santos *et al.* (2007), que relataram uma alteração no comportamento dos insetos nos primeiros minutos e uma diminuição dos movimentos nas primeiras horas após a aplicação de óleos essenciais sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae).

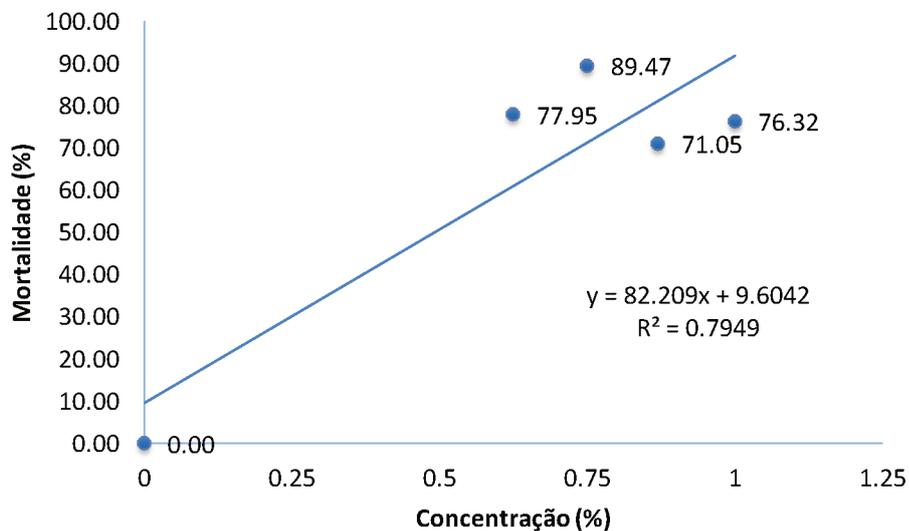
Em conformidade com os resultados obtidos neste estudo, Santos *et al.* (2013) destacaram os resultados com a utilização do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius Raddi* (Anacardiaceae) sobre *H. hampei*. Após 24 horas do bioensaio, observou-se uma mortalidade de 72,5% a 90% nas diluições de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , havendo um declínio nas demais, de 10^{-5} a 10^{-8} , e no controle experimental, no qual a mortalidade não superou 40%. O autor ainda

reafirma que a mortalidade atingiu seu limite em 48 horas de ensaio, nas diluições 10^{-2} (100%), 10^{-3} (82,5%) e 10^{-4} (80%) e no controle (25%).

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a eficiência dos compostos botânicos na mortalidade de *H. hampei* e abrem perspectivas para utilização na consorciação com outros métodos de controle da praga.

Os resultados da aplicação tópica (tarsal) do inseticida botânico após 24 horas de avaliação (FIGURA 8) demonstraram uma ascendência na mortalidade dos insetos de *H. hampei* em todas as concentrações; porém, a mortalidade foi mais elevada nas de 0,62% e 0,75%, com respectivas taxas de mortalidade de 77,95% e 89,47%. Ainda, foi observada uma queda da mortalidade nas concentrações de 0,87% e 1,0%, com valores de 71,05% e 76,32%, respectivamente; porém, a mortalidade registrada superou os resultados alcançados na aplicação sobre o papel-filtro, evidenciando a ação de contato do inseticida botânico.

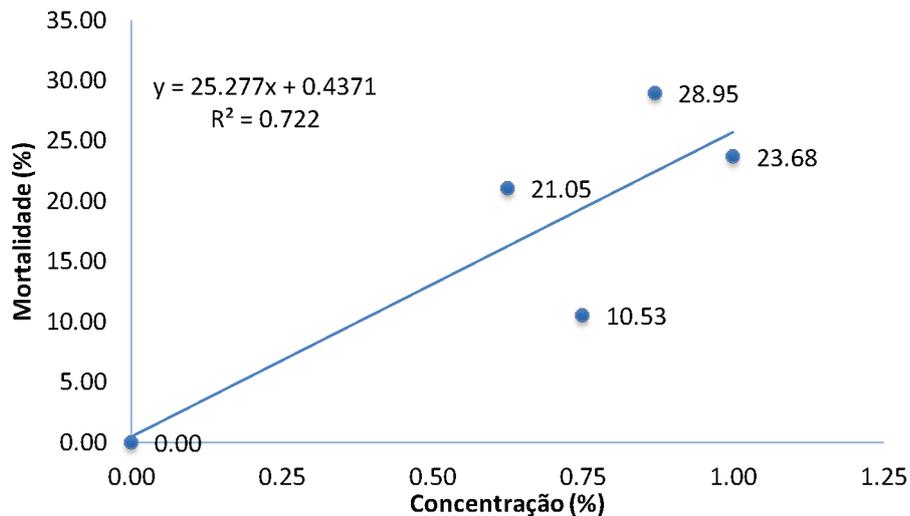
Figura 8 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de *Hypothenemus hampei* (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre o inseto (tarsal) em placas de Petri após 24 horas de pulverização, com temperatura de 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz (valor- $p = 1,291E^{-16}$)



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Os resultados obtidos na avaliação entre 24-48 horas evidenciaram valores de mortalidade de *H. hampei* que variaram de 10,53% a 28,95% nas concentrações testadas (FIGURA 9).

Figura 9 – Modelo de regressão linear da porcentagem de mortalidade de *Hypothenemus hampei* (X) em função da porcentagem da concentração de inseticida botânico sobre o inseto (tarsal) em placas de Petri com 24-48 horas após pulverização, com temperatura de 25 ± 1 °C, UR $65 \pm 5\%$, em ausência de luz (valor- $p = 0,0001$)



Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

As avaliações com 48 horas após as pulverizações demonstraram que a mortalidade dos insetos atingiu seu limite (100%) (TABELA 5), ressaltando o efeito e a letalidade do inseticida botânico, cuja aplicação tópica (tarsal) mostrou-se eficiente na mortalidade dos insetos.

Tabela 5 – Efeito do inseticida botânico aplicado diretamente (aplicação tópica no torso) sobre adultos de *Hypothenemus hampei* para avaliar cada concentração dentro de cada período estudado (24 horas, 24-48 horas e 48 horas – somatória dos períodos de avaliação)

Concentração da formulação	Taxa de mortalidade (%)					
	0-24 horas		24-48 horas		Σ 48 horas	
1,00%	76,32	aB	23,68	abC	100,00	aA
0,87%	71,05	aA	28,95	aB	100,00	aA
0,75%	89,47	aA	10,53	abB	100,00	aA
0,62%	78,95	aA	21,05	abB	100,00	aA
Controle	0,00	bA	0,00	bA	0,00	bA

Legenda: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Santos *et al.* (2013) mencionaram que a avaliação da aplicação tópica de óleo essencial extraído do *S. terebinthifolius* sobre a broca-do-café apresentou alta mortalidade nas primeiras 24 horas, ao passo que a avaliação nas 24 horas subsequentes (48 horas) não apresentou variações, demonstrando que o óleo provoca mortalidade rápida e reafirmando, portanto, a necessidade de aditivos para o aumento de sua persistência em ambiente de campo.

Santos *et al.* (2010b) verificaram que a aplicação tópica do extrato de *Piper hispidum* apresentou-se eficiente, mas não atingiu 100% na promoção da mortalidade dos insetos de *H. hampei*. Similarmente, Estrela (2006) demonstraram ter obtido taxas de mortalidade de 5 a 30% dos insetos em seus estudos com a aplicação tópica de inseticida botânico formulado com *Piper aduncum* L. (Piperaceae) em adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae).

Corroborando esses resultados, Depieri *et al.* (2003) verificaram em laboratório que ação da emulsão do óleo de nim e do extrato aquoso em diversas doses reduziu o ataque da broca aos frutos na ordem de 30 a 70%. Reafirmando, Santos *et al.* (2013) mencionaram que, na menor diluição utilizada ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) do extrato de *P. alatabaccum*, houve 75% de mortalidade de *H. hampei* nas primeiras 24 horas. Após esse período, houve pequenas variações de 5% na mortalidade, mostrando que o efeito residual do extrato não é expressivo.

Os resultados do ensaio tópico (tarsal) mostraram-se eficientes e confirmaram as perspectivas levantadas nos estudos anteriores, fundamentando a concentração de 0,75% para ser utilizada nos testes de campo do inseticida botânico e enfatizando também um menor impacto no ambiente e economia para o produtor.

5.1.3 Identificação dos constituintes químicos do óleo de nim

Os resultados obtidos na identificação dos constituintes presentes no óleo de nim pela espectrometria de massa com cromatografia a gás confirmaram a presença dos compostos de ácido tetradecanoico ou ácido mirístico (10,32%), ácido 9,12-octadecadienóico ou ácido linoleico (49,28%), ácido 11-octadecenoico ou ácido vacênico (35,05%) e ácido heptacosanoico ou ácido heptacosílico (5,35%) (TABELA 6).

Tabela 6 – Composição proporcional de ácidos graxos no óleo de nim

Tempo de retenção	Ácidos graxos		% Composição
43,04	Ácido tetradecanóico ou ácido mirístico	14:0	10,32
48,38	Ácido 9,12-octadecadienóico ou ácido linoleico	18:2	49,28
48,55	Ácido 11-octadecenoico ou ácido vacênico	18:1	35,05
49,28	Ácido heptacosanóico ou ácido heptacosílico	27:0	5,35

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Dhar *et al.* (1998), analisando uma amostra de óleo de nim (*A. indica*) sem qualquer tratamento prévio, também detectaram a presença de ácido mirístico (0,17%) e ácido linoleico (18,60%). Pinto e Lanças (2010), analisando o óleo de nim não refinado, comprado em comércio local e sem tratamento prévio, por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas (HRGC-MS), identificaram a presença de ácido linoleico (14,08%) em sua composição. Os dados aqui apresentados demonstraram que o óleo de nim utilizado na formulação do inseticida botânico possui porcentagens superiores desses ácidos.

5.2 Testes em campo

5.2.1 Avaliação da ação inseticida da formulação botânica em insetos adultos de *H. hampei* em condições de campo

As áreas tratadas com o inseticida botânico apresentaram incidência de insetos inferior à do tratamento controle (8,8% e 23,4% respectivamente), perfazendo uma diferença significativa. Na comparação de incidência de insetos nas áreas tratadas com inseticida botânico e com o inseticida químico, não se observaram diferenças significativas (8,8% e 7,4%, respectivamente) (TABELA 7).

Tabela 7 – Efeito médio dos tratamentos na incidência (\pm erro padrão) de adultos de *Hypothenemus hampei* em ensaio de campo na região de Monte Carmelo/MG, no período de 29 de dezembro de 2017 a 12 de março de 2018

Tratamento	Incidência de insetos (%)*		Incidência de insetos (%) em relação à testemunha
Inseticida químico (abamectina 18 g/L+ clorantianiliprole 45 g/L) e (Clorpirifós 480 g/L)	7,4 \pm 1,47	a	68,35
Inseticida botânico	8,8 \pm 2,45	a	62,40
Controle	23,4 \pm 1,75	b	0

Legenda: Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, à probabilidade de 1%. Valor- $p = 3,13E^{-06}$. Média (M) \pm erro padrão da média.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

Os dados apresentados demonstram o efetivo controle de *H. hampei* pelo inseticida botânico, apresentando uma média 8,8% de incidência de insetos, com um erro padrão de $\pm 2,45$, e um potencial uso em substituição aos pesticidas químicos, os quais apresentaram média de 7,4% de incidência de insetos, com um erro padrão de $\pm 1,47$, e são tradicionalmente usados para controle das brocas. Os dois tratamentos ficaram significativamente próximos, com um p -valor de $3,13E^{-06}$ em teste de Tukey, com probabilidade de 1%.

O controle da broca-do-café é dificultado por sua biologia: ciclo de vida (da postura dos ovos até o surgimento das fêmeas adultas) dentro do fruto e sobreposição de gerações, o que resulta na presença de indivíduos de diferentes idades dentro do mesmo fruto (BAKER *et al.*, 1992). Essas dificuldades intensificam o uso de inseticidas químicos, o que pode acarretar uma seleção de gerações resistentes às moléculas sintéticas, redução da eficiência no controle do inseto e possível aumento da dose necessária de ingredientes ativos (BARRETO, 2005), gerando maiores gastos econômicos. Para tanto, é importante a busca por produtos orgânicos e novas moléculas, bem como a conscientização de produtores e consumidores (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Como alternativa, os inseticidas botânicos, oriundos de recursos renováveis, têm vários compostos ativos de ação sinérgica (BARRETO, 2005). Os extratos em concentrações recomendadas não afetam possíveis predadores, como percevejos, joaninhas, aranhas, ácaros, pássaros, anfíbios e mamíferos, preservando o equilíbrio dos inimigos naturais e ocasionando menores danos ambientais (SCHMUTTERER, 1995). Sobre a forma de ação dessas substâncias, Santos *et al.* (2010a) afirmam que a mortalidade obtida em condições de campo tem relação direta com o contato do inseto com os inseticidas botânicos. De acordo com Regnault-Roger (1997), a toxicidade dos óleos essenciais depende, dentre várias condições,

da forma de entrada das toxinas, podendo ser ingeridas na alimentação, absorvidas pelo tegumento dos insetos ou por efeito de contato em fumigação e fagoinibidor, sendo esses fatores determinantes na velocidade da mortalidade.

Observando-se os resultados deste estudo, nota-se uma baixa incidência do inseto na planta após a aplicação do tratamento com óleo de nim. Essa redução pode estar relacionada à capacidade reprodutiva do inseto, ou seja, à redução dos ovos viáveis ou, ainda, à não oviposição, seja ela causada pela interrupção alimentar ou pela possível esterilidade do macho ou da fêmea. Essa hipótese é reforçada pelos resultados alcançados por Steets (1976), que avaliou a aplicação de 100 ppm do extrato do grão *A. indica* purificado e não obteve acréscimo no índice de mortalidade do inseto *Leptinotarsa: decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). No entanto, foi observada uma queda na capacidade reprodutiva (96,74%), o que afetou seu índice populacional. O autor ainda observou que, após 44 dias da aplicação do inseticida botânico à base de nim, obteve-se 78 vezes menos descendentes e, por conseguinte, uma grande influência sobre a ovogênese.

Resultados confirmados por Steffens e Schmutterer (1982) mencionam incapacidade de 78,8% dos adultos da mosca varejeira, *Phormia terrae-novae* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae) de voar normalmente, logo após adicionarem 20 mg.kg⁻¹ de produto à base de óleo de nim. Provavelmente, esse é o resultado da interferência ecdisteroide pelo inseticida botânico agindo sobre o sistema neuroendócrino do inseto. Além disso, houve uma redução de 50% no número de indivíduos que atingiram a maturidade sexual.

Menezes (2005) mencionou em seu estudo que os semioquímicos do nim, compostos por triterpenoides, conhecidos como limonoides, sendo de maior importância a azadiractina, a nimbina e a salanina, exercem efeitos específicos nas diferentes fases de crescimento e/ou a deterrência da oviposição dos insetos. Martinez e Meneguim (2003) identificaram uma redução de 50% na eclosão de ovos das lagartas do bicho-mineiro do café, *L. coffeella*, após serem tratados com solução de óleo emulsionável de nim a 1,25 mL.L⁻¹, e ainda uma diminuição na alimentação das lagartas devido ao efeito fagodeterrente, o que ocasionou a morte das pragas após vários dias, refletindo na população final do inseto.

Os dados obtidos neste trabalho permitem estabelecer a aplicabilidade do inseticida botânico para controle de *H. hampei* em uma concentração de 0,75%, com pulverização de 3 L.ha⁻¹ com volume de calda de 400 L.ha⁻¹, realizando-se de 3 a 4 aplicações em intervalos de 20 dias.

6 CONCLUSÕES

Foi possível obter uma formulação de inseticida botânico composto por óleos essenciais (nim e D-limoneno) que ocasionou a morte de *H. hampei*, resultando em um substituto para inseticidas químicos sintéticos a ser utilizado em programas de controle da broca-do-café.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. Econ. Entomol.**, v. 18, p. 265-267, 1925. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265>.
- ACTION Stat. Versão 3.6.331.450 build 7. São Carlos: Estatcamp, 2014. Disponível em: <https://www.estatcamp.com.br/empresa/action-stat>. Acesso em: 20 dez. 2018.
- ADJALLE, K. D. *et al.* Photostabilization of *Bacillus thuringiensis* fermented wastewater and wastewater sludge based biopesticides using additives. **Acta Tropica**, v. 111, p. 7-14, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.11.016>.
- AGROLINK. Agrolinkfito. **Agrolink**, jul. 2018. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/produto>. Acesso em: 30 jan. 2019.
- AGUIAR-MENEZES, E. de L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa, 2005. (Embrapa Agrobiologia. Documentos). ISSN: 1517-8498.
- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas: guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 7. ed. São Paulo: Organização Andrei, 2005. ISBN: 85-778-309-8.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC, nº 28, de 9 de agosto de 2010. Regulamento Técnico para o Ingrediente Ativo Endossulfan em decorrência da Reavaliação Toxicológica. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 ago. 2010. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_28_2010_.pdf. Acesso em: 28 jan. 2019.
- ANVISA. Resolução RE nº 665, de 20 de fevereiro 2014. Incluir o ingrediente ativo A58 – AZADIRACHTA INDICA na relação de monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira. **Diário Oficial da União**, Brasília, 21 fev. 2014. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia>. Acesso em: 28 jan. 2019.
- ARTHURS, S. P.; LACEY, L. A.; BEHLE, R. W. Evaluation of spray dried lignin-based formulations and adjuvants as solar protectants for the granulovirus of the codling moth, *Cydia pomonella* (L). **J. Invertebr. Pathol.**, v. 93, p. 88-95, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.04.008>.
- BAKER, P. S. *et al.* Factors affecting the emergence of *Hypothenemus-Hampeii* (Coleoptera, Scolytidae) from *Coffee Berries*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 82, n. 2, p. 145-150, 1992. <https://doi.org/10.1017/S000748530005166X>.
- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti*: Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n.2, p. 62-73, 2005. ISSN: 1808-8597.

- BENZI, V.; STEFANAZZI, N.; FERRERO, A. A. Biological Activity of Essential Oils from Leaves and Fruits of Pepper Tree (*Schinus molle* L.) to Control Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.). **Chilean journal of agricultural research**, v. 69, n. 2, p. 154-159, 2009. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392009000200004>.
- BERGAMIN J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei* Ferrari. **Arq Inst Biol**, v.14, p. 31-72, 1943.
- BEZERRA, M. C. L.; VEIGA, J. E. **Agricultura sustentável**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; Consórcio Museu Emílio Goeldi, 2000. ISBN: 85-7300-099-6.
- BRUN, L. O. *et al.* Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **J. Econ. Entomol**, v. 82, p. 1311-1316, 1989. <https://doi.org/10.1093/jee/82.5.1311>.
- BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>. Acesso em: 2 out. 2017.
- CAMARGO, A. P.; CAMARGO, M. B. P. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro *arábica* nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 60, p. 65-68, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052001000100008>.
- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Ceres, 2005. ISBN: 85-3180044-7.
- CECAFÉ (Conselho dos Exportadores de Café do Brasil). **Relatório mensal dezembro 2017**. São Paulo: Cecafé, 2017. Disponível em: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_estatistico/CECAFE_Relatorio_Mensal_DEZEMBRO_2017.pdf. Acesso em: 10 set. 2018.
- CELESTINO, F. N. **Técnica de criação e associação de métodos de controle da broca-do-café, *Hypothenemus hampei***. 2014. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da Safra Brasileira (2018): café**, v. 5 – safra 2018, nº. 2 – segundo levantamento. Brasília: Conab, 2018.
- COSTA, J. N. M. *et al.* Performance de inseticidas químicos e biológicos no controle de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera Scolytidae) em Rondônia. *In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ & SAÚDE*, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2003. p. 347-348.
- DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 90, n. 6, p. 453-465, 2000. <https://doi.org/10.1017/S0007485300000584>.

DAVIS, A. P. *et al.* Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Bot. J. Linn. Soc.**, v. 167, p. 357-377, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2011.01177.x>.

DEPIERI, M. R. A.; MARTINEZ, S. S. Redução da sobrevivência da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), e do seu ataque aos frutos de café pela pulverização com nim em laboratório. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 632-637, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000400026>.

DEPIERI, R. A *et al.* Efeito repelente do óleo, extrato de sementes e de folhas de Nim, *Azadirachta indica* A. Juss., sobre a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Resumos...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2003. p. 337-338.

DHAR, R. *et al.* Inhibition of the growth and development of asexual and sexual stages of drug-sensitive and resistant strains of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* by Neem (*Azadirachta indica*) fractions. **J Ethnopharmacol**, v. 61, p. 31-39, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00012-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00012-9).

DUREJA, P.; JOHNSON S. Photodegradation of azadirachtin-A: A neem-based pesticide. **Curr. Sci.**, v. 79, p. 1700-1703, 2000.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 130, p. 325-337, 2001. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00255-1](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00255-1).

ESTRELA, J. L. V. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217-222, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000200005>.

FERLAB LABORATORIO AGRÍCOLA. **Análise de solos, folhas e fertilizantes**. Araguari: Ferlab, 2018. Reg. MAPA: MG-00385.

FERNANDEZ S.; CORDERO J. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en condiciones de laboratorio Bioagro. **Basquisemeto**, v. 19, p. 35-40, 2007.

FERREIRA, A. J. *et al.* Bioecology of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) in a Cerrado agrossistem of Cerrado in Minas Gerais State. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p. 422-431, 2003. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542003000200024>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.

FFRENCH-CONSTANT, R. H.; STEICHEN, J. C.; BRUN, L. O. A molecular diagnostic for endosulfan insecticide resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, p. 11-16, 1994.
<https://doi.org/10.1017/S000748530003217X>

FLORES-CÉSPEDES F. *et al.* Preparation and Characterization of Azadirachtin Alginate-Biosorbent Based Formulations: Water Release Kinetics and Photodegradation Study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 38, p. 8391-8398, 2015.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03255>.

FÜLLER, T. N. **Caracterização fenotípica, fitoquímica e molecular de populações de *Elionurus* SP. Humb. & Bompl ex Willd (capim-limão)**. 2008. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

IRULANDI, S. *et al.* Effect of botanical insecticides on coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Biopesticides**, v.1, n.1, p.70-3, 2008.

GALLO, D. *et al.* Pragas das Plantas e seu controle (Cafeeiro). *In*: GALLO, D. *et al.* **Manual de entomologia agrícola**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. p. 433-450.

GALLO, D. *et al.* **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GOOGLE. **Google Earth**. Version 7.3.1. 2016. Disponível em: <http://earth.google.com/>. Acesso em: 11 nov. 2017.

GREEN, P. W. C. *et al.* Can Coffee Chemical Compounds and Insecticidal Plants Be Harnessed for Control of Major Coffee Pests?. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 43, p. 9427-9434, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03914>.

INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial). Lista de indicações geográficas registradas. **Inpi**, 2013. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/indicacao-geografica/lista-de-igs-registradas>. Acesso em: 30 jul. 2018.

JESUS, C. M., ORTEGA A.C., Território, certificação de procedência e a busca da singularidade: o caso do Café do Cerrado. **Política & Sociedade**, v.10, n. 19, p. 305-330, 2011. <https://doi.org/10.5007/2175-7984.2011v10n19p305>.

KAY, I. R.; COLLINS, P. J. The problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 8, p. 715-721, 1987.
<https://doi.org/10.1017/S1742758400022827>.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A; MACHADO, M. Potencial Inseticida de Plantas da Família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 225-242, 2014.
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500027>.

LAURENTINO, E.; COSTA, J. N. M. **Descrição e caracterização biológica da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari 1867) no Estado de Rondônia**. Porto Velho: Embrapa, 2004.

- LUCAS, M. B.; LUCAS, R. V. Estudo de eficiência biológica e praticabilidade agrônômica dos inseticidas Thiacloprid (Calypso 480 SC) e Methicarb (Mensurol 500 SC) no controle da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 27.*, 2001, Uberaba. **Anais...** Uberaba: MAPA; UFLA; Fundação Procafé, 2001. P.120-121.
- MARTINEZ S. S. (Ed.). O nim – *Azadirachta indica* – natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Iapar, 2002.
- MARTINEZ, S. S.; MENEGUIM, A. M. Redução da oviposição e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* causadas pelo óleo emulsionável de nim. **Manejo Integrado de Pragas y Agroecologia**, Turrialba, v. 67, p. 58-62, 2003.
- MATIELLO, J. B. Ensaio de novos produtos no controle a broca do café (*H. hampei*). *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 17.*, 1991, Varginha (Brasil). **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA; SNPA; Embrapa, 1991. p. 7-8.
- MCCULLAGH, P.; NELDER, J. A. **Generalized Linear Models**. Londres: Chapman and Hall, 1989. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-3242-6>.
- MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. *In: EMBRAPA. Documentos 205*. Rio de Janeiro: Seropédica, 2005.
- MIRANDA G. R. B. *et al.* Influência do volume de calda na qualidade da pulverização em frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), avaliado com corante. *In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 6.*, 2009, Vitória. **Anais...** Vitória: Consorcio Pesquisa Café, 2009.
- MORDUE (LUNTZ), A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000400001>.
- MOREIRA M. D. *et al.* Uso de Inseticidas Botânicos no Controle de Pragas. **Docplayer**, 2007. Disponível em: <https://docplayer.com.br/7503231-Uso-de-inseticidas-botanicos-no-controle-de-pragas.html>. Acesso em: 10 fev. 2017.
- NAKANO, O.; SAZAKI, C. S. S.; GRAVA, M. W. R. Manejo do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* do cafeeiro e da broca do café, *Hypothenemus hampei*, com o inseticida Curyom. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20.*, 2004, Gramado. **Resumos...** Gramado: SEB, 2004. p. 327.
- NASCIMENTO J. B. Fatores que afetam a liberação e a eficiência de parasitóides no controle biológico de insetos-praga. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 13, p. 550-570, 2011.
- NASCIMENTO, L.; MELNYK, A. A química dos pesticidas no meio ambiente e na saúde. **Revista Mangaio Acadêmico**, v. 1, n.1, p. 54-61, jan./jun., 2016.

- NEGAHBAN, M.; MOHARRAMIPOUR, S. Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored-product beetles. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 4, p. 256-261, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2007.01152.x>.
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 77-82, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000100011>.
- PACHECO, A. G.; REBELO, M. F. A simple R-based function to estimate lethal concentrations. **Marine Environmental Research**, v. 91, p. 41-44, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.08.003>.
- PAKDELA, H.; PANTEAA, D.; ROY, C. Production of d-limonene by vacuum pyrolysis of used tires. **J Anal Appl Pyrolysis**, v. 57, p. 91-107, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0165-2370\(00\)00136-4](https://doi.org/10.1016/S0165-2370(00)00136-4).
- PARK, C. *et al.* Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 375-384, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(02\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(02)00030-9).
- PELLEY, R. H. le. **Pests of Coffee**. Londres: Longmans; Green & Co., Ltd., 1968.
- PEANA, A. T. *et al.* Effects of (-)-Linalool in the acute hyperalgesia induced by carrageenan, L-glutamate and prostaglandin E2. **Eur. J. Pharmacol.**, Sassari, v. 485, n. 1-3, p. 165-174, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.06.006>.
- PÉREZ, J. *et al.* Microorganismos asociados a la broca del café: existe realmente un mutualismo?. **Anais Café Londrina**, Paraná, p. 65-75, 2007.
- PICANÇO, M. C. **Manejo integrado de pragas**. Viçosa: Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa: 2010.
- PINTO, J. S. S.; LANÇAS, F. M. Hidrólise do óleo de *Azadirachta indica* em água subcrítica e determinação da composição dos triacilglicerídeos e ácidos graxos por cromatografia gasosa de alta resolução a alta temperatura e cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas. **Quim. Nova**, v. 33, p. 394-397, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000200029>.
- RAVEN, F. H.; EVERT, R. T.; CURTIS, H. **Biologia vegetal**. Tradução Ana Claudia M. Vieira. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 2, p. 25-34, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1018472227889>.
- REIS, P. R. Broca-do-café: conheça os métodos para eliminar a ameaça. **Cultivar**, Pelotas, v. 38, p. 10-13, 2002.

REIFENRATH, K.; BECKER, C.; POETHKE, H. J. Diaspore Trait Preferences of Dispersing Ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 9, p. 1093-1104, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0174-y>.

REIS, P. R. Controle químico no manejo integrado da broca-do-café. In: HOMANN, C. L. (Org.). **Manejo da broca-do-café**. Londrina: Iapar, 2007. p. 151-175.

REIS, P. R. *et al.* Manejo integrado das pragas do cafeeiro. In: REIS, P. R.; CUNHA, R. L. da (Ed.). **Café arábica: do plantio à colheita**. Lavras: Epamig, 2010. p. 573-688.

RIBEIRO, I. S.; MENDONÇA, E. S. Matéria orgânica do solo: compartimentos da matéria orgânica do solo. In: FERREIRA, R.N. *et al.* (Ed). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 286-310.

ROSA, W. de la *et al.* Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. **Journal of economic entomology**, v. 93, n. 5, p. 1409–1414, 2000. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.5.1409>.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999.

SANTOS, S. R. L. *et al.* Toxic effects on and structure-toxicity relationships of phenylpropanoids, terpenes, and related Compounds in *Aedes aegypti* larvae. **Vector-Borne Zoonotic Dis**, p. 1049-1054, 2010a. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0158>.

SANTOS, M. R. A. *et al.* Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 2, p. 319-324, 2010b. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042010000200012>.

SANTOS, M. R. A. *et al.* Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 3, n. 1, p. 77-84, 2007.

SANTOS, M. R. A. *et al.* Composição química e atividade inseticida do extrato acetônico de *Piper alatabaccum* Trel & Yuncker (Piperaceae) sobre *Hypothenemus hampei* Ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 332-336, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000300004>.

SCHMUTTERER, H. **The neem tree *Azadirachta indica* A. Juss. and other meliaceous plants**. Weinheim: VCH, 1995. <https://doi.org/10.1002/3527603980>.

SILVA, W. D. **Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* Scolytinae, Coleoptera Curculionidae**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

SONG, J. Y. *et al.* Pasting properties of non-waxy rice starch hydrocolloid mixtures. **Starch/Stärke**, v. 58, n. 5, p. 223-230, 2006. <https://doi.org/10.1002/star.200500459>.

- SOUZA, A. M. de *et al.* Manejo populacional de *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) utilizando extrato de algas marinhas. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA*, 25., 2014, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SEB, 2014.
- SOUZA, J. C. de; REIS, P. R. **Broca-do-café**: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle. 2. ed. Belo Horizonte: Epamig, 1997. (Boletim Técnico, 50).
- SOUZA, J. C. de; REIS, P. R. Eficiência dos inseticidas Fipronil, Ethirprole e Endosulfan MC em pulverização no controle da broca do café. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS*, 26.; ENCONTRO DE CAFEICULTORES DE MARÍLIA, 6., 2000, Marília, SP. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: Procafé, 2000. p. 167-168.
- SOUZA, J. C. *et al.* **Cafeicultor**: saiba como proceder com a broca-do-café sem o inseticida endosulfan. Belo horizonte: Epamig, 2012. (Circular Técnica).
- SPONAGEL, K. W. Eficacia del aceite de nim, extractos de AZT y acetona de nim en el control de la broca del cafe *Hypothenemus hampei* em comparacion com medidas quimicas y biológicas. *In: CONGRESO LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE SOBRE NIM Y OTROS INSECTICIDAS VEGETALES*, 1994, Santo Domingo (Republica Dominicana). **Anais...** Santo Domingo: GTZ, 1994. p. 257-266.
- STATISTICA. Versão 13.3. Palo Alto: Tibco, 2017. Disponível em: <http://www.statsoft.com/>. Acesso em: 30 ago. 2018.
- STEETS, R. Zur Wirkung eines gereinigten Extraktes aus Früchten von *Azadirachta indica* A. Juss auf *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae). **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, v. 82, n. 1-4, p. 169-176, 1976. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1976.tb03392.x>.
- STEFFENS, R.; SCHMUTTERER, H. The effect of a crude methanolic neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extract on metamorphosis and quality of adults of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 14, p. 98-103, 1982. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1982.tb02551.x>.
- THOMAZIELLO R. A. O cultivo de cafeeiro em sistema adensado. **O Agrônomo, Campinas**, v. 53, n. 2, p. 8-10, 2001.
- TROEH, F. R; THOMPSON, L. M. **Solos e Fertilidade do Solo**. 6 ed. Tradução Prof. Durval Dourado Neto e Manuella Nóbrega Dourado. São Paulo: Andrei, 2007.
- VENDRAMIM, J. D. Plantas inseticidas e controle de pragas. **Informativo da Sociedade Entomológica do Brasil**, n. 25, p. 1-5, 2000.
- VIEIRA, C. P.; FERNANDES, B. J. Plantas inseticidas. *In: SIMÕES, C. M. et al. (Org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS; UFSC, 1999. p. 739-754.
- WHEELER, D. A.; ISMAN, M. B. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larva of *Spodoptera litura*. **Entomology Experimental Applied**, v. 98, p. 9-16, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00751.x>. Acesso em: 10 jan. 2019. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00751.x>.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides?. **Illinois Pesticide Review**, v. 17, n. 3, p. 1-8, 2004.

ZHAO, B. *et al.* Deterring and inhibiting effects of quinolizidine alkaloids on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) oviposition. **Environmental of Entomology**, v. 27, p. 984-992, 1998. <https://doi.org/10.1093/ee/27.4.984>.

ZORZETTI, J. *et al.* Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2849-2862, 2012. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Sup1p2849>