



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO**  
**CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL**

Gisele Silva Oliveira

**EFEITO DE SAPONINAS VEGETAIS SOBRE A MOSCA-  
BRANCA EM COMBINAÇÃO COM *Beauveria bassiana***

Petrolina

2023

**GISELE SILVA OLIVEIRA**

**EFEITO DE SAPONINAS VEGETAIS SOBRE A MOSCA-  
BRANCA EM COMBINAÇÃO COM *Beauveria bassiana***

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção vegetal do *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves Gervásio  
Coorientador: Dr. Tiago Cardoso da Costa Lima

Petrolina

2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO - UNIVASF**

**Gabinete da Reitoria**

**Sistema Integrado de Bibliotecas (SIBI)**

Av. José de Sá Maniçoba, s/n, Campus Universitário – Centro CEP 56304-917  
Caixa Postal 252, Petrolina-PE, Fone: (87) 2101- 6760, [biblioteca@univasf.edu.br](mailto:biblioteca@univasf.edu.br)

O48e Oliveira, Gisele Silva  
Efeito de Saponinas vegetais sobre a mosca-branca em combinação com *Beauveria bassiana* / Gisele Silva Oliveira. – Petrolina-PE, 2023. xiv, 66 f.: il.; 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2023.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves Gervásio.

Inclui referências.

1. Controle biológico. 2. Fungos entomopatogênicos. 3. Pragas agrícolas. 4. Saponinas. 5. Mosca-branca I. Título. II. Gervásio, Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 633.92

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UNIVASF.  
Bibliotecária: Andressa Laís Machado de Matos CRB – 4/2240.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO**  
**CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Gisele Silva Oliveira

Efeito de saponinas vegetais sobre a mosca-branca em combinação com  
*Beauveria bassiana*

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 28 de fevereiro de 2023

**Banca Examinadora**

Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves Gervásio, D.Sc. em Entomologia,  
UNIVASF



Documento assinado digitalmente  
RITA DE CASSIA RODRIGUES GONCALVES  
Data: 16/03/2023 12:08:37-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>



Documento assinado digitalmente  
TIAGO CARDOSO DA COSTA LIMA  
Data: 14/03/2023 16:38:27-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Tiago Cardoso da Costa Lima, D.Sc. em Entomologia, Embrapa Semiárido



Documento assinado digitalmente  
BEATRIZ DE AGUIAR GIORDANO PARANHOS  
Data: 16/03/2023 06:57:03-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos, D.Sc. em Ciências Biológicas, Embrapa  
Semiárido



Documento assinado digitalmente  
VIRGINIA MICHELLE SVEDESE  
Data: 16/03/2023 11:28:09-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Virgínia Michelle Svedese, D.Sc. em Ciências Biológicas, UNIVASF

Aos meus pais, José e Oziana, por todo amor,  
incentivo e confiança.

**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por seu amor imensurável, por sempre guiar meus caminhos e escolhas e por me dar forças para continuar minha missão nesta vida.

Aos meus pais, José Moisés de Oliveira e Oziana Oliveira, por serem meu porto seguro e me ensinarem a ter fé, independente das circunstâncias.

À Jaine Oliveira, minha irmã e melhor amiga, por dividir comigo essa jornada.

À Universidade Federal do Vale do São Francisco e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, pela oportunidade de realizar esta pós-graduação.

À Embrapa Semiárido, por disponibilizar a estrutura e equipamentos necessários para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo fornecimento da bolsa de estudos.

À Dra. Rita Gervásio, pela orientação, paciência e por sempre ser muito solícita durante todo esse processo.

Ao meu Coorientador, Dr. Tiago Costa Lima, pelos ensinamentos, troca de ideias, incentivo e confiança.

Ao Dr. Carlos Gava, por todos ensinamentos, paciência, conselhos e auxílio nas análises estatísticas.

Ao Dr. Wagner Félix, por fornecer as saponinas que possibilitaram o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos membros da banca avaliadora, Dra. Beatriz Paranhos e Dra. Virgínia Svedese, pelas contribuições para melhoria deste trabalho.

Aos amigos que fiz na pós-graduação, Brunara Evely, Mirele Xavier, Priscila Machado e Ronny Elisson.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido, Lane Natacha, Robson Barros, Marília Mikaelle, Wanderson Antunes, Victor Hugo, Farah Gama e Francisco Nonato, pelo acolhimento, trocas de experiências e momentos de descontração.

Aos amigos que fazem parte do Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido, Kezia Escobar, Taise Passos, Gabriella Alves, Jonh Lennon Santos, Gabriel Oliveira e, em especial, ao técnico Herbert Targino, por toda paciência e apoio durante a execução dos experimentos.

À Jane Clésia Santos, amiga que se tornou uma irmã, por dividir os problemas, medos e sonhos, por encarar a pós-graduação e mudança de cidade comigo. Pelo apoio e força para não desistir.

Aos meus amigos, Alciele Leite, Alícia Sandrelly, Eduarda Lima e Thiago Cavalcanti, por todo carinho e incentivo.

A Antônio Silva (Tone), Elaine Ferreira, Isis Ferreira e Lucas Santos por tornarem a passagem por Petrolina mais agradável.

E a todos que contribuíram para a realização deste trabalho e na minha formação profissional e humana, muito obrigada!

## RESUMO

A procura por métodos de controle biológico aumenta anualmente e os fungos entomopatogênicos são uma alternativa promissora para o controle de pragas agrícolas. Para obter uniformidade na aplicação desses microrganismos é necessário o uso de substâncias dispersantes. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do complexo de saponinas de *Albizia inundata* (Mart.) Barneby & J. W. Grimes sobre a mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae), em combinação com *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae). Inicialmente foram realizados ensaios para avaliar a ação inseticida de saponinas (0; 200; 400; 800; 1.600 ou 3.200 mg L<sup>-1</sup>) sobre ovos e ninfas de *B. tabaci*, assim como, o efeito repelente para adultos. Visando a capacidade dispersante, conídios de *B. bassiana* IBCB 289 foram avaliadas em diferentes soluções contendo saponinas (0,1; 1; 10; 100 e 1.000 mg L<sup>-1</sup>) e comparadas com Triton X-100 (0,01%) (controle). Também foram conduzidos testes de compatibilidade das saponinas com *B. bassiana* IBCB 66, por meio de ensaios de germinação, crescimento micelial, produção e germinação de conídios produzidos em meio contendo saponinas. Por fim, verificou-se a mortalidade de ovos, ninfas e adultos de *B. tabaci* expostos a cinco concentrações de *B. bassiana* IBCB 66 dispersa na solução de saponinas e em Triton X-100 (controle). A solução de saponinas não apresentou efeito inseticida sobre ovos e ninfas. Apenas houve repelência de adultos de *B. tabaci* a folhas de feijoeiro após 24h da aplicação das saponinas, no entanto, não foi verificada diferença de oviposição entre os tratamentos. Houve efeito das concentrações da solução de saponinas na dispersão de conídios ao longo do tempo. A concentração de 1.000 mg L<sup>-1</sup> apresentou o maior número de conídios em suspensão aos 0, 15 e 30 minutos, assemelhando-se ao controle. As saponinas apresentaram toxicidade moderada a *B. bassiana*, uma vez que causaram redução na germinação e na produção de conídios do isolado IBCB 66, mas não apresentaram efeito sobre o crescimento micelial e germinação de conídios cultivados em meio contendo saponinas. Os conídios de *B. bassiana* IBCB 66, quando dispersos em saponinas, ocasionaram 33,32% de mortalidade de ovos, assemelhando-se a mortalidade encontrada quando os conídios foram dispersos em Triton X-100. Não houve efeito dos surfactantes sobre a mortalidade de ninfas. Na maior concentração avaliada, *B. bassiana* causou mortalidade superior a 90% das ninfas em ambos surfactantes. Não houve diferença da CL50 de *B. bassiana* na solução com saponinas e Triton (2,35 x 10<sup>7</sup> e 1,44 x 10<sup>7</sup> conídios mL<sup>-1</sup>, respectivamente). O tratamento Triton + *B. bassiana* IBCB 66 apresentou a maior redução na sobrevivência de adultos, no qual apenas 43,65% dos insetos alcançaram o décimo dia, os demais tratamentos permitiram que mais de 50% dos insetos permanecessem vivos durante o mesmo período. Portanto, as saponinas vegetais são um possível substituto aos surfactantes sintéticos, uma vez que dispersam conídios semelhante ao Triton X-100 e não afetam a ação do fungo quanto a sua capacidade de causar mortalidade de ovos e ninfas.

**Palavras-chave:** Controle biológico. *Bemisia tabaci*. Surfactante.

## ABSTRACT

The search for biological control methods increases annually and entomopathogenic fungi are a promising alternative for controlling agricultural pests. To obtain uniformity in the application of these microorganisms, it is necessary to use dispersing substances. Thus, the objective of this work was to investigate the effect of the saponin complex of *Albizia inundata* (Mart.) Barneby & J. W. Grimes on the whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae), in combination with *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae). Initially, tests were carried out to evaluate the insecticidal action of saponins (0; 200; 400; 800; 1,600 or 3,200 mg L<sup>-1</sup>) on eggs and nymphs of *B. tabaci*, as well as the repellent effect for adults. Aiming at dispersant capacity, conidia of *B. bassiana* LCB 289 were evaluated in different solutions containing saponins (0.1; 1; 10; 100 and 1,000 mg L<sup>-1</sup>) and compared with Triton X-100 (0.01%) (control). Compatibility tests of saponins with *B. bassiana* IBCB 66 were also conducted, through germination tests, mycelial growth, production and germination of conidia produced in medium containing saponins. Finally, the mortality of eggs, nymphs and adults of *B. tabaci* exposed to five concentrations of *B. bassiana* IBCB 66 dispersed in the saponin solution and in Triton X-100 (control) was verified. The saponin solution did not have an insecticidal effect on eggs and nymphs. There was only repellence of *B. tabaci* adults to bean leaves after 24 hours of saponin application, however, there was no difference in oviposition between treatments. There was an effect of the concentrations of the saponin solution on the dispersion of conidia over time. The concentration of 1,000 mg L<sup>-1</sup> showed the highest number of conidia in suspension at 0, 15 and 30 minutes, similar to the control. Saponins showed moderate toxicity to *B. bassiana*, since they caused a reduction in germination and production of conidia of isolate IBCB 66, but had no effect on mycelial growth and germination of conidia grown in medium containing saponins. The conidia of *B. bassiana* IBCB 66, when dispersed in saponins, caused 33.32% of egg mortality, resembling the mortality found when the conidia were dispersed in Triton X-100. There was no effect of surfactants on nymph mortality. At the highest concentration evaluated, *B. bassiana* caused mortality greater than 90% of the nymphs in both surfactants. There was no difference in the LC50 of *B. bassiana* in the solution with saponins and Triton (2.35 x 10<sup>7</sup> and 1.44 x 10<sup>7</sup> conidia mL<sup>-1</sup>, respectively). The Triton + *B. bassiana* IBCB 66 treatment showed the greatest reduction in adult survival, in which only 43.65% of the insects reached the tenth day, the other treatments allowed more than 50% of the insects to remain alive during the same period. Therefore, vegetable saponins are a possible substitute for synthetic surfactants, since they disperse conidia similar to Triton X-100 and do not affect the action of the fungus in terms of its ability to cause mortality of eggs and nymphs.

**Keywords:** Biological control. *Bemisia tabaci*. Surfactant.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura da molécula de saponina. .... 19
- Figura 2.** Gaiola utilizada para estudo com chance de escolha de adultos de *Bemisia tabaci* com folíolos de feijoeiro tratados com saponinas de *Albizia inundata* ou controle (água destilada esterilizada). .... 28
- Figura 3.** Porcentagem de eclosão de ninfas de *Bemisia tabaci* após pulverização com concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ )..... 34
- Figura 4.** Efeito de concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ ) sobre a sobrevivência de ninfas de segundo ínstar de *Bemisia tabaci* após pulverização. .... 35
- Figura 5.** Efeito do tempo na porcentagem de visitação de adultos de *B. tabaci* a folhas tratadas com concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ ). \*significativo pelo teste F a 5% de probabilidade. .... 37
- Figura 6.** Preferência para oviposição de fêmeas de *Bemisia tabaci* a folhas tratadas com concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ )..... 38
- Figura 7.** Número de conídios de *Beauveria bassiana* em suspensão ( $\log_{10}^{X_{ij}}$ ) (A) e proporção de conídios em relação ao Triton X-100 (0,01%) (controle) (B) ao longo do tempo para concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ )..... 39
- Figura 8.** Número de grumos de *Beauveria bassiana* em suspensão ao longo do tempo para concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ ) ou Triton X-100 (controle). Valores transformados em  $\log_{10}^{X_{ij}}$ . .... 40
- Figura 9.** Porcentagem de Germinação (%) (A), crescimento micelial (cm) (B), taxa de crescimento micelial aos 20 dias ( $\text{cm dia}^{-1}$ ) (C), produção de conídios

(cm<sup>-2</sup>) (D), germinação de conídios produzidos em meio contendo saponinas (%) (E) e proporção de conídios germinados em relação ao controle (%) (F) de *Beauveria bassiana* IBCB 66 submetidos a concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* (mg L<sup>-1</sup>). ..... 42

**Figura 10.** Mortalidade de ninfas de segundo ínstar de *Bemisia tabaci* pulverizados com concentrações crescentes de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton X-100..... 46

**Figura 11.** Sobrevivência de adultos de *Bemisia tabaci* submetidos ao contato residual de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* (1.000 mg L<sup>-1</sup>) (Spnn) ou Triton X-100. .... 48

**Figura 12.** Mortalidade de adultos de *Bemisia tabaci* submetidos ao contato residual de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton X-100..... 49

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Índice biológico (IB) e classificação quanto a compatibilidade de concentrações crescentes do complexo de saponinas de *Albizia inundata* com *Beauveria bassiana* IBCB 66..... 43

**Tabela 2.** Mortalidade (%) de ovos de *Bemisia tabaci* pulverizados com concentrações crescentes de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton X-100 (0,01%)..... 45

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....	15
2.1 Objetivos específicos .....	15
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	16
3.1 Fungos entomopatogênicos .....	16
3.1.1 <i>Beauveria bassiana</i> (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae) .....	17
3.2 Adjuvantes.....	18
3.3 Saponinas vegetais .....	19
3.3.1 <i>Albizia inundata</i> (Mart.) Barneby & J. W. Grimes .....	21
3.4 <i>Bemisia tabaci</i> Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae) .....	22
3.4.1 Métodos de controle de <i>B. tabaci</i> .....	24
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	26
4.1 Obtenção do complexo de saponinas de <i>Albizia inundata</i> .....	26
4.2 Criação e manutenção de <i>Bemisia tabaci</i> .....	26
4.3 Obtenção de plantas de feijoeiro para os ensaios.....	26
4.4 Efeito do complexo de saponinas de <i>A. inundata</i> sobre <i>B. tabaci</i> .....	26
4.4.1 Ovos e ninfas .....	26
4.4.2 Repelência de adultos de <i>B. tabaci</i> ao complexo de saponinas de <i>A. inundata</i> .....	27
4.5 Dispersão de conídios de <i>B. bassiana</i> em solução de saponinas de <i>A. inundata</i> .....	29
4.6 Compatibilidade de <i>Beauveria bassiana</i> IBCB 66 com o complexo de saponinas de <i>Albizia inundata in vitro</i> .....	29
4.6.1 Suspensão fúngica .....	29
4.6.2 Germinação.....	30
4.6.3 Crescimento micelial, produção e germinação.....	30
4.7 Efeito da combinação de <i>B. bassiana</i> IBCB 66 com o complexo de saponinas de <i>A. inundata</i> sobre <i>B. tabaci</i> .....	31
4.7.1 Ovos e ninfas .....	31
4.7.2 Adultos .....	32
4.8 Análises estatísticas.....	33
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	33
5.1 Ação do complexo de saponinas de <i>A. inundata</i> sobre <i>B. tabaci</i> .....	33
5.1.1 Ovos e ninfas .....	33

5.1.2 Repelência de adultos de <i>B. tabaci</i> ao complexo de saponinas de <i>A. inundata</i> .....	36
5.2 Dispersão de conídios de <i>B. bassiana</i> LCB 289 em solução de saponinas de <i>A. inundata</i> .....	38
5.3 Compatibilidade de <i>Beauveria bassiana</i> IBCB 66 com as saponinas de <i>Albizia inundata in vitro</i> .....	41
5.4 Ação de conídios de <i>B. bassiana</i> IBCB 66 dispersos em saponinas de <i>A. inundata</i> sobre <i>B. tabaci</i> .....	44
<b>6 CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	<b>52</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de métodos de controle biológico vem aumentando de 10 a 15% ao ano em todo o mundo (PARRA, 2019). O Brasil tem se destacado como sendo um dos países que mais utilizam o controle biológico em áreas agrícolas. Nesse sentido, em várias regiões são empregados parasitoides, predadores e entomopatógenos para o controle de diversos organismos-praga (PARRA; COELHO JÚNIOR, 2019). Entre as opções biológicas para o controle de pragas, há algumas espécies de fungos que apresentam patogenicidade a insetos, causando morte através da destruição de tecidos, déficit nutricional e liberação de micotoxinas (MAINA et al., 2018; DANNON et al., 2020; ST. LEGER; WANG, 2020).

Para a aplicação desses fungos em áreas agrícolas é necessário a utilização de substâncias que ajudem a dispersar os conídios, uma vez que são estruturas hidrofóbicas (DANNON et al., 2020). Enquadram-se nisso os adjuvantes, que podem ser adicionados na formulação ou durante o preparo da calda. Essas substâncias atuam como agente umectante, promovem a homogeneidade, além de aumentarem a dispersão e a adesão dos conídios ao organismo-alvo (GREEN; BEESTMAN, 2007; JIN et al., 2008; MASCARIN et al., 2014; ARNOSTI et al., 2019).

O efeito dos adjuvantes varia de acordo com sua composição, com a espécie e o isolado fúngico no qual é testado. Alguns podem ser incompatíveis, afetando a germinação, crescimento e produção de conídios (COSTA et al., 2003; WENZEL et al., 2003). Já outros são capazes de potencializar a ação dos fungos entomopatogênicos (ARNOSTI et al., 2019; CURKOVIC, et al., 2019; LOEBLEIN et al., 2022). Algumas dessas substâncias adjuvantes, podem ainda, de forma isolada apresentar toxicidade aos insetos (TIPPING et al., 2003; SRINIVASAN et al., 2008; KIM; JE, 2010; ARNOSTI et al., 2019;).

Vários estudos têm demonstrado que moléculas provenientes do metabolismo vegetal, como as saponinas, podem ser utilizadas como adjuvantes (ROY et al., 1997; RAI et al., 2021). As saponinas são moléculas anfifílicas, resultantes do metabolismo secundário vegetal, conhecidas por apresentarem propriedade adjuvante equivalente à de produtos sintéticos, como a solubilização de substâncias insolúveis em água, redução da tensão superficial e formação de micelas (OSBOURN, 1996; PRADHAN; BHATTACHARYYA, 2017). As

saponinas também são capazes de afetar os insetos de diferentes formas. Elas podem provocar repelência, interferir no desenvolvimento e causar toxicidade por contato, por afetarem a camada cerosa da epiderme, e por ingestão, uma vez que podem provocar a permeabilização e rompimento da membrana das células intestinais (GEYTER; GEELLEN; SMAGGHE, 2007; CUI et al., 2019).

A mosca-branca foi escolhida para esse estudo, por se tratar de uma espécie com alto potencial biótico, grande capacidade de dispersão e ampla gama de hospedeiros (MUSA; REN, 2005). Esse inseto, por acarretar diversos danos às culturas agrícolas, como atrofia da planta e transmissão de fitoviroses, é amplamente controlada por meio da aplicação de inseticidas sintéticos. Várias evidências, entretanto, têm demonstrado que a aplicação excessiva desses produtos vem ocasionando a seleção de populações resistentes (PALUMBO; HOROWITZ; PRABHAKER, 2001; BELLO et al., 2021; MAPA, 2022).

## 2 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito do complexo de saponinas de *Albizia inundata* (Mart.) Barneby & J. W. Grimes sobre a mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae), em combinação com *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae).

### 2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a ação inseticida do complexo de saponinas de *A. inundata* sobre ovos e ninfas de *B. tabaci*;
- Avaliar o efeito repelente do complexo de saponinas de *A. inundata* sobre adultos de *B. tabaci*;
- Investigar a ação do complexo de saponinas de *A. inundata* como dispersante de conídios de *B. bassiana*;
- Avaliar a compatibilidade de *B. bassiana* com o complexo de saponinas de *A. inundata*;
- Investigar a combinação de *B. bassiana* com o complexo de saponinas de *A. inundata* sobre ovos, ninfas e adultos de *B. tabaci*.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Fungos entomopatogênicos

Nos últimos anos tem se observado um aumento na busca por métodos de controle biológico de pragas por parte dos produtores rurais, por fornecer um melhor acesso dos produtos agrícolas ao mercado externo e reduzir a pressão de seleção de populações resistentes. Entre as alternativas biológicas mais utilizadas, estão os microrganismos entomopatogênicos, como fungos, bactérias e nematoides, que ocorrem naturalmente no ambiente e são responsáveis por controlar desordens populacionais de diversos organismos nos agroecossistemas (FARIA; WRAIGHT, 2001).

Os fungos entomopatogênicos vêm ganhando espaço na produção agrícola brasileira, uma vez que o modo de aplicação se assemelha a de um inseticida convencional (PARRA; COELHO JÚNIOR, 2019). Na atualidade, a maior parte dos pesticidas microbianos registrados tem como ingrediente ativo esses organismos (MASCARIN et al., 2019). Fungos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae), *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff, 1879 (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Cordyceps fumosorosea* Wize, 1904 (Hypocreales: Cordycipitaceae) estão entre os mais utilizados e estudados para o manejo de diversos insetos-praga (JAVED et al., 2019; RIZWAN et al., 2019; ST. LEGER; WANG, 2020; PARADZA et al., 2021).

Esses microrganismos são capazes de causar infecção, tanto por ingestão, como através do contato com a cutícula do inseto, seu principal alvo (MONDAL et al., 2016; ST. LEGER; WANG, 2020). Para causar a infecção, a princípio, é necessário que haja a fixação do conídio na cutícula do inseto. A cutícula apresenta duas regiões. A mais externa é denominada epicutícula, a qual é constituída por proteínas e lipídios, ao que lhe confere características hidrofóbicas, já a camada mais interna, a procutícula, além de proteínas e lipídios, apresenta quitina em sua composição (BHADANI et al., 2021). Os fungos entomopatogênicos liberam enzimas hidrolíticas, como lipases, proteases e quitinases, a fim de degradar essa camada, permitindo que ocorra a germinação e penetração no hospedeiro com o auxílio do tubo germinativo ou apressório, que exerce força mecânica, até atingir a hemocele (ORTIZ-

URQUIZA; KEYHANI, 2013; PEDRINI et al., 2013; MONDAL et al., 2016; DANNON et al., 2020; BHADANI et al., 2021).

O fungo coloniza a hemocele por meio de hifas ou blastósporos que absorvem água e nutrientes, causando déficit nutricional no hospedeiro. Ele também pode produzir conídios, que germinam e repetem o processo de infecção (MONDAL et al., 2016; ST. LEGER; WANG, 2020). Observa-se a produção de micotoxinas que driblam o sistema imunológico e aceleram a infecção, causando morte e mumificação. Ao atingir o exterior do inseto, as hifas recobrem o cadáver. Inicia-se a formação de conidióforos e, posteriormente, os conídios estarão aptos para a dispersão (DANNON et al., 2020).

Fatores ambientais podem interferir no processo de infecção, assim como a planta hospedeira, pela presença de tricomas, por exemplo, que favorecem a umidade ou a fixação do conídio na superfície do corpo do inseto, aumentando as chances de infecção (ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013; ZAFAR et al., 2016). A patogenicidade do fungo também pode variar com a espécie ou com a fase de desenvolvimento do hospedeiro. Além disso, isolados de uma mesma espécie podem alcançar diferentes taxas de germinação e infecção por produzirem diferentes quantidades de enzimas hidrolíticas que podem aumentar ou diminuir a capacidade de penetrar a cutícula (SHAH; PELL, 2003; MONDAL et al., 2016).

### **3.1.1 *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae)**

*Beauveria bassiana* é um fungo necrotrófico facultativo encontrado no solo. Pertencente ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Cordycipitaceae, é conhecido por sua patogenicidade a insetos de diversas ordens (MASCARIN; JARONSKI, 2016; DANNON et al., 2020). Os conídios, forma assexuada de *B. bassiana*, apresentam formato esférico ou oval, com coloração esbranquiçada ou amarelada, podendo medir de 1 a 5,5 µm de diâmetro (SHAH; PELL, 2003; DANNON et al., 2020). São estruturas hidrofóbicas e, a depender do isolado, a hidrofobicidade da parede celular pode mudar. Essa característica permite que haja uma maior retenção de água nessa estrutura, favorece a dispersão pelo vento e promove sua fixação na cutícula do inseto (GATARAYIHA; LAING; MILLER, 2010; MELO et al., 2020).

Há evidências da patogenicidade deste fungo a diversos insetos-praga. Diferentes isolados de *B. bassiana* foram patogênicos a *Thaumatotibia leucotreta* Meyrick, 1913 (Lepidoptera: Tortricidae), *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Pyralidae), *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae), *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae), *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856 (Hemiptera: Aleyrodidae), entre outros (DUARTE et al., 2016; JAVED et al., 2019; RIZWAN et al., 2019; MKIGA et al., 2020; PARADZA et al., 2021).

### 3.2 Adjuvantes

Há registros que mostram o uso de substâncias com propriedades adjuvantes na agricultura desde o século XVIII, com o objetivo de proporcionar maior adesão dos agentes de controle no organismo-alvo, permitindo sua atuação (HOLLOWAY et al., 2000; GREEN; BEESTMAN, 2007). Com o passar dos anos, diversos adjuvantes sintéticos foram produzidos para uso no meio agrícola a fim de auxiliar a aplicação e/ou potencializar a ação de ingredientes ativos. Uma vez que podem atuar como agente umectante, reduzir a tensão superficial de uma solução, promover maior dispersão, retenção e distribuição dos ingredientes ativos, favorecendo sua permanência em superfícies hidrofóbicas (HOLLOWAY et al., 2000; LUZ; BATAGIN, 2005; DUNLAP; BEHLE; JACKSON, 2014; MASCARIN et al., 2014).

No caso dos fungos entomopatogênicos, os conídios, estruturas infectivas, são hidrofóbicos, por isso, é necessário o uso de substâncias que auxiliem na homogeneidade da calda a ser aplicada e garanta a dispersão desses agentes de controle sem afetar sua eficiência (COSTA et al., 2003; SHAH; PELL, 2003; DANNON et al., 2020).

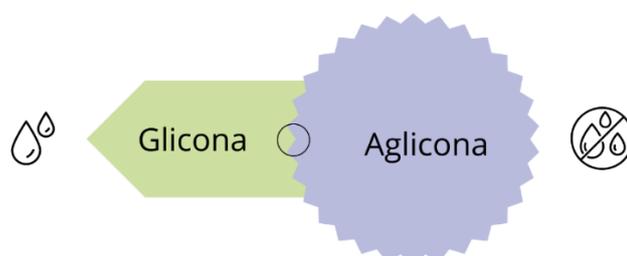
Diversos estudos vêm sendo conduzidos avaliando o efeito desses produtos em associação com fungos entomopatogênicos. Alguns surfactantes são capazes de proporcionar maior concentração de conídios em suspensão, porém afetam a viabilidade do fungo (GATARAYIHA; LAING; MILLER, 2010; MISHRA; KUMAR; MALIK, 2013). Já outros, quando utilizados com fungos entomopatogênicos, são capazes de potencializar o efeito desses agentes de controle, proporcionando maior mortalidade de insetos com menor quantidade de conídios mL<sup>-1</sup> (ARNOSTI et al., 2019; CURKOVIC, et al., 2019; THAKUR;

JOSHI; SHARMA, 2021; LOEBLEIN et al., 2022). Também há surfactantes, como o Silwet L-77, Assist®, Aureo® e TS-2035®, que, quando utilizados isoladamente, apresentam toxicidade para insetos-praga como *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae), *Gyropsylla spegazziniana* a Lizer & Trelles, 1919 (Hemiptera: Aphalaridae) e *Pseudococcus viburni* Signoret, 1875 (Hemiptera: Pseudococcidae) (TIPPING et al., 2003; SRINIVASAN et al., 2008; CURKOVIC, et al., 2019; LOEBLEIN et al., 2022). Entretanto, além dos surfactantes sintéticos, há evidências de substâncias oriundas do metabolismo secundário vegetal que apresentam propriedades semelhantes, como é o caso das saponinas (YANG et al., 2013; ZHU et al., 2019; RAI et al., 2021).

### 3.3 Saponinas vegetais

Os vegetais possuem mecanismos de sobrevivência a estresses bióticos e abióticos. Em condições desfavoráveis, como em solos salinos ou ataque de patógenos e pragas, sintetizam e acumulam metabólitos secundários (WINK, 2008; COSTA et al., 2013; ZAYNAB et al., 2021). Entre esses metabólitos estão as saponinas, que também podem ser encontrados em alguns animais marinhos, mas são mais abundantes no metabolismo vegetal (VINCKEN et al., 2007).

As saponinas, do Latim “sapo” que significa sabão, são glicosídeos formados por uma parte polar e hidrofílica, a glicona, que consiste de uma, até dez unidades de açúcares, podendo ser D-glicose, L-ramnose, D-galactose, ácido D-glucurônico, L-arabinose, D-xilose ou D-fucose, ligada por uma ligação glicosídica a uma aglicona ou sapogenina, parte hidrofóbica e apolar da molécula (Figura 1) (OLESZEK; BIALY, 2006; PODOLAK; GALANTY; SOBOLEWSKA, 2010).



**Figura 1.** Estrutura da molécula de saponina.

A aglicona pode se ligar a até três cadeias de açúcares, originando diversas estruturas de saponina (OLESZEK; BIALY, 2006; VINCKEN et al., 2007). A

quantidade e a estrutura da saponina podem variar entre os órgãos vegetais e em relação aos níveis de estresse sofridos pelo vegetal (ZAYNAB et al., 2021).

A classificação dessas moléculas é realizada por meio da estrutura da aglicona. Dessa forma, de acordo com o esqueleto de carbono da aglicona, elas podem ser classificadas quimicamente como saponinas esteroidais, que são moléculas com 27 átomos de carbono, ou saponinas triterpenoides, moléculas com 30 átomos de carbono (SPARG; LIGHT; VAN STADEN, 2004; VINCKEN et al., 2007; SINGH; KAUR, 2018). As classificadas como triterpenoides são essenciais no metabolismo de defesa vegetal (ZAYNAB et al., 2021).

A estrutura química da saponina permite que essa molécula seja utilizada como adjuvante, uma vez que são capazes de apresentar atividade de superfície, formar micelas, reduzir a tensão superficial da água, formar espuma, emulsões, entre outros, assim, as saponinas são classificadas como surfactantes não iônicos (RAI et al., 2021).

Há evidências de que surfactantes botânicos que contêm a saponina como seu principal constituinte apresentam propriedades tensoativas superiores ou semelhantes aos de surfactantes sintéticos (TMÁKOVÁ; SEKRETÁR; SCHMIDT, 2016; PRADHAN; BHATTACHARYYA, 2017; ZHU et al., 2019). Assim, essas moléculas podem ser utilizadas como adjuvante vacinal, na indústria alimentícia, em produtos de higiene pessoal e agrícolas (SONG; HU, 2009; SUN; XIE; YE, 2009; RAGUPATHI et al., 2011; YANG et al., 2013).

Além disso, as saponinas, em geral, apresentam toxicidade contra insetos. Por serem moléculas anfifílicas, possuem a capacidade de interagir com a membrana celular, aumentando sua permeabilidade e causando a perda de sua integridade, podendo levar o organismo à morte (OSBOURN, 1996). Análises histológicas do intestino médio de *Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776 (Hemiptera, Aphididae) alimentado com dieta contendo saponina revelaram que houve a perda da integridade do epitélio do intestino médio, conduzindo o inseto à morte (GEYTER et al., 2012). O mesmo ocorreu com *Ectropis obliqua* Prout, 1915 (Lepidoptera: Geometridae) (CUI et al., 2019).

Também há evidências da sua atuação formando complexos com enzimas digestivas e esteróis, interferindo no processo de digestão, ecdise, crescimento e desenvolvimento (GEYTER; GEELLEN; SMAGGHE, 2007; ZAYNAB et al., 2021). *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae), *Helicoverpa armigera* Hübner, 1809 (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera*

*littoralis* Boisduval, 1833 (Lepidoptera: Noctuidae) e *A. pisum* alimentados com dieta contendo saponina também apresentaram redução de peso e tamanho, atraso no desenvolvimento, prolongamento dos estágios imaturos e má formação da pupa, no caso dos lepidópteros (GEYTER; GEELLEN; SMAGGHE, 2007; GEYTER et al., 2012; MIRHAGHPARAST et al., 2020; TIAN et al., 2021).

A aplicação da saponina sobre folhas de plantas hospedeiras de *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae), *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856 (Hemiptera: Aleyrodidae) e *B. tabaci* causaram repelência ou toxicidade a esses insetos (BOUCHELTA; BOUGHADAD; BLENZAR, 2005; PORRAS; LOPÉZ-ÁVILA, 2009; DOLMA et al., 2018). Além disso, quando aplicada por contato em *E. obliqua*, a solução de saponina causou danos à camada cerosa da epiderme, facilitando a entrada da substância no corpo do inseto e favorecendo a perda de água, levando à desidratação (CUI et al., 2019). A aplicação tópica também causou mortalidade de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) (BAGAVAN et al., 2008).

### 3.3.1 *Albizia inundata* (Mart.) Barneby & J. W. Grimes

O gênero *Albizia*, família Leguminosae, subfamília Mimosoideae, engloba cerca de 150 espécies, em sua maioria árvores e arbustos, que podem ser encontradas nos trópicos, com maior diversidade na África, América central e América do Sul (ABDEL-KADER et al., 2001; KOKILA; PRIYADHARSHINI; SUJATHA, 2013). As espécies pertencentes a esse gênero possuem diversos fitoquímicos em sua composição, com destaque para as saponinas. Já foram isolados e identificados 149 compostos de saponinas em espécies do gênero *Albizia* (HE et al., 2020).

A espécie *Albizia inundata*, popularmente conhecida como bigueiro, biguazeiro, canafístula, muquém ou timbó-branco, é uma leguminosa de porte arbóreo que ocorre naturalmente na região amazônica, no Vale do rio São Francisco e no Pantanal Mato-grossense (LORENZI, 1998). É uma espécie pioneira no grupo sucessional, de rápido crescimento, podendo atingir de 5 a 8 m de altura. Possui tronco ereto e cilíndrico, com copa arredondada e folhas compostas bipinadas. A inflorescência é do tipo capítulo, com flores hermafroditas, de coloração esbranquiçada, e o fruto é uma vagem achatada e

deiscente (LORENZI, 1998; MARCHIORI; ALVES, 2012). É um vegetal que pode ser utilizado na recuperação de áreas degradadas, especialmente em solos de baixa fertilidade, em função de sua associação com bactérias fixadoras de nitrogênio. Também é usada como quebra-vento, forragem, na construção civil e na arborização urbana (CARVALHO, 2014).

Na medicina popular, as flores de *A. inundata* são utilizadas para combater ansiedade, depressão e insônia. O vegetal também é utilizado para tratar gripe, tosse, diarreia e problemas pulmonares (KOKILA; PRIYADHARSHINI; SUJATHA, 2013). Há evidências de que produtos obtidos a partir dessa espécie apresentam atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias (ANDRADE et al., 2020). Além disso, a saponina obtida a partir da parte aérea de *A. inundata* apresentou citotoxicidade contra células cancerígenas (ZHANG et al., 2011). Porém sua atividade sobre insetos e, principalmente, como adjuvante ainda não foi investigada.

### **3.4 *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae)**

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae), é um inseto sugador, polífono e, apesar de não ser um díptero, recebe esse nome pela semelhança visual. Os adultos possuem coloração amarelo claro com dois pares de asas membranosas brancas recobertos por um pó ceroso de mesma coloração (HILL, 1969). Esses insetos estão amplamente distribuídos nas regiões tropicais, sendo que, na atualidade, *B. tabaci* é considerado um complexo que envolve 44 espécies crípticas (NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ CAMPOS, 2011; KANAKALA; GHANIM, 2019).

As espécies crípticas não apresentam distinção morfológica, apenas diferenças ecológicas e genéticas (BELLO et al., 2020). No Brasil, já foi registrada a presença das espécies *B. tabaci* New world 1 (NW1), New world 2 (NW2 ou biótipo A), Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1 ou biótipo B) e Mediterranean (MED ou biótipo Q) (BARBOSA et al., 2014; RODRIGUES et al., 2021; FERNANDES et al., 2022). Porém o biótipo B, que foi introduzido na década de 90 no estado de São Paulo, predomina até os dias atuais em todo território brasileiro (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994; HOROWITZ; ISHAAYA, 2014; FERNANDES et al., 2022).

Essa ampla disseminação no país está ligada ao clima tropical que favorece as populações de *B. tabaci*. Além disso, este inseto possui hospedeiros de diversas famílias botânicas, como Brassicaceae, Caricaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Malvaceae, Poaceae, Solanaceae e outras. Dentre essas espécies incluem desde plantas espontâneas a espécies cultivadas, sendo responsável por causar inúmeros danos diretos e indiretos quando associadas à essas culturas (ALEMANDRI et al., 2015; QUINTELA et al., 2016; BELLO et al., 2021; RODRIGUES et al., 2021).

Os danos diretos são causados pela sucção de seiva e injeção de fitotoxinas realizada por ninfas e adultos, podendo reduzir o vigor da planta (MUSA; REN, 2005; HOROWITZ; ISHAAYA, 2014). Como danos indiretos, pode-se destacar a liberação de *honeydew* que serve como substrato para fungos saprófitas, que recobrem a superfície foliar e reduzem a área fotossintética ativa, e a transmissão de fitoviroses, como *Begomovirus* (Geminiviridae), *Crinivirus* (Closteroviridae), *Carlavirus* (Betaflexiviridae), *Ipomovirus* (Potyviridae) e *Torradovirus* (Secoviridae), que se dá principalmente pelo hábito alimentar dos insetos adultos (NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ CAMPOS, 2011; COSTA et al., 2020; BELLO et al., 2021).

As fêmeas ovipositam na face abaxial da folha. Os ovos podem ser postos individualmente ou em grupos e possuem um pedicelo que liga a base do ovo à folha (HILL, 1969; NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ CAMPOS, 2011). Os ovos apresentam formato elíptico com comprimento variando de 0,17 a 0,22 mm e de 0,08 a 0,12 mm de largura. Inicialmente os ovos apresentam coloração branco-amarelada e, à medida que ocorre o desenvolvimento embrionário, adquirem a cor castanho-dourado (LIMA; LARA; SANTOS, 2001; CARAPIA RUIZ; CASTILLO-GUTIÉRREZ, 2013). Este período tem duração de 4,5 a 7,4 dias (26 °C) (MUSA; REN, 2005; QUINTELA et al., 2016).

Após a eclosão, as ninfas passam por quatro ínstar. No primeiro ínstar, dispõem de antenas e pernas funcionais que possibilitam a movimentação do inseto na superfície foliar em busca de um local para alimentação. Ao encontrar o local adequado, permanece sésil até a fase adulta (HILL, 1969). O primeiro ínstar dura aproximadamente 3,5 dias (26 °C), as ninfas possuem forma elíptica com coloração branco-amarelada e com dois corpos gordurosos amarelos no abdome. Além disso, apresentam uma fina camada cerosa na região dorsal. O tegumento é fino e membranoso, podendo atingir de 0,26 a 0,3 mm de

comprimento e de 0,15 a 0,16 mm de largura (LIMA; LARA; SANTOS, 2001; MUSA; REN, 2005; CARAPIA RUIZ; CASTILLO-GUTIÉRREZ, 2013).

No segundo ínstar, que tem duração média de 2,75 dias (26 °C), verifica-se atrofiamento das pernas e antenas, sendo que as ninfas tornam-se mais transparentes quando comparadas às de primeiro ínstar, podendo atingir de 0,38 a 0,40 mm de comprimento e de 0,24 a 0,25 mm de largura. As ninfas de terceiro ínstar, que tem duração de 4,5 dias (26 °C), podem alcançar de 0,44 a 0,56 mm de comprimento e de 0,35 a 0,36 mm de largura (HILL, 1969; LIMA; LARA; SANTOS, 2001; MUSA; REN, 2005).

No quarto ínstar, a princípio, as ninfas são amareladas, achatadas e os apêndices estão atrofiados, mas tornam-se convexas e neste estágio recebem o nome de “pseudo-pupa”, podendo atingir de 0,73 a 0,86 mm de comprimento e de 0,52 a 0,63 mm de largura. Os insetos permanecem nesse ínstar por 7,5 dias (26 °C), até a emergência dos adultos (HILL, 1969; LIMA; LARA; SANTOS, 2001). Os adultos podem atingir de 0,7 a 1,03 mm de comprimento, sendo que os machos, em geral, são menores que as fêmeas, (LIMA; LARA; SANTOS, 2001; MUSA; REN, 2005; CARAPIA RUIZ; CASTILLO-GUTIÉRREZ, 2013).

O período de desenvolvimento de ovo a adulto pode sofrer variações de acordo com a espécie hospedeira. No feijão-caupi, por exemplo, este ciclo tem duração de 15 a 22,7 dias (MUSA; REN, 2005). A longevidade das fêmeas pode atingir de 11 a 18 dias, com fecundidade variando de 100 a 300 ovos. A maior parte da oviposição ocorre entre o segundo e quarto dia após a emergência (GALLO et al., 2002; MUSA; REN, 2005).

#### **3.4.1 Métodos de controle de *B. tabaci***

O manejo de *B. tabaci* envolve métodos que visam reduzir ao máximo o nível populacional do inseto nas áreas de cultivo, pois são transmissores de fitovirose e mesmo em baixas populações podem causar danos. O fato de se hospedarem em plantas daninhas torna sua erradicação difícil, pois, na ausência da cultura principal, se alojam nessas plantas e permanecem em campo até a instalação do novo cultivo, onde reiniciam a infestação (QUINTELA et al., 2016).

As estratégias de controle do inseto envolvem a integração de diversas táticas de manejo. É recomendada a eliminação de restos de cultura, de plantas hospedeiras e plantas que apresentem sintomas de virose. Armadilhas adesivas

amarelas, que auxiliam no monitoramento e na captura de insetos adultos também podem ser utilizadas, assim como o cultivo de variedades resistentes (LIMA; LARA, 2004; KHUHRO et al., 2020). A aplicação de produtos derivados de componentes vegetais, como óleos botânicos, tem sido recomendada, a exemplo do óleo de gergelim, óleo de citrus e óleo de rícino, que apresentam atividade sobre ninfas do inseto (GALLO et al., 2002; MARQUES et al., 2014).

Inseticidas químicos sintéticos representam a ferramenta de controle mais utilizada no combate desse inseto-praga, sendo os do grupo químico dos neonicotinóides os mais eficazes (HOROWITZ et al., 2020). Porém alguns dos produtos registrados para a praga não são seletivos a inimigos naturais e, além disso, há evidências do desencadeamento de mecanismos de resistência de *B. tabaci* a esses inseticidas (PALUMBO; HOROWITZ; PRABHAKER, 2001; KONTSEDALOV et al., 2009; MAPA, 2022).

Outras estratégias, como o controle biológico, também são ferramentas indispensáveis para o manejo dessa praga e podem atuar como alternativa ou complemento ao controle convencional com inseticidas. A conservação de inimigos naturais, como predadores e parasitoides, auxilia no controle de *B. tabaci* em campo. Entre os predadores relatados na literatura, destaca-se o ácaro *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) (HOROWITZ et al., 2020). Já entre os parasitoides, algumas espécies, como *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), já foram relatadas em associação com *B. tabaci* (GERLING, 1986; URBANEJA; SÁNCHEZ; STANSLY, 2007; HE et al., 2018). Além disso, há evidências de que os microrganismos entomopatogênicos se constituem numa ferramenta promissora no manejo integrado deste inseto (JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003; ZAFAR et al., 2016; JAVED et al., 2019; BHADANI et al., 2021; BOAVENTURA et al., 2021).

Isolados de *B. bassiana* foram capazes de causar mortalidade de ovos e ninfas de *B. tabaci* em plantas de tomate, algodão, batata-doce e berinjela (JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003; QUESADA-MORAGA et al., 2006; ZAFAR et al., 2016; JAVED et al., 2019), e em adultos de *B. tabaci* em algodão. O grau de patogenicidade, entretanto, variou com a concentração, isolado, hospedeiro e estágio de desenvolvimento do inseto. Em geral, ninfas são mais susceptíveis que ovos e adultos (BUGTI et al., 2018; BHADANI et al., 2021).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção do complexo de saponinas de *Albizia inundata*

Foram utilizadas sementes de *A. inundata*, as quais foram reduzidas a pó na presença de nitrogênio líquido, seguindo-se a metodologia de Zhang et al. (2011) para a extração do complexo de saponinas. Para a obtenção da solução estoque, o complexo de saponinas de *A. inundata* foi diluído em água destilada esterilizada (ADE) e centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos. A solução foi esterilizada em membrana filtrante (0,22 µm) acoplada a uma seringa e, posteriormente, armazenada em recipiente de vidro sob refrigeração.

### 4.2 Criação e manutenção de *Bemisia tabaci*

Os insetos utilizados nos ensaios foram obtidos de uma criação estabelecida em casa de vegetação no setor de Entomologia da Embrapa Semiárido. Como hospedeiro, para criação, foram utilizadas plantas de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC. cv. Manteiga da Geórgia) cultivadas em vasos plásticos (5 L) contendo como substrato solo, areia e esterco (1:1:1). As plantas infestadas foram mantidas em gaiolas protegidas com tela anti-afídeo (200 x 120 x 80 cm), sendo que novas plantas eram introduzidas nas gaiolas periodicamente para substituir aquelas muito danificadas.

### 4.3 Obtenção de plantas de feijoeiro para os ensaios

Para realização dos bioensaios, foram utilizadas plantas de feijoeiro cultivadas em casa de vegetação. Para a obtenção das plantas, sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) foram cultivadas em vasos plásticos (0,5 L) contendo como substrato solo, areia e esterco (1:1:1). Foram mantidas duas plantas por vaso, as quais não foram submetidas a tratamento químico.

### 4.4 Efeito do complexo de saponinas de *A. inundata* sobre *B. tabaci*

#### 4.4.1 Ovos e ninfas

Os feijoeiros foram colocados nas gaiolas de criação com adultos de *B. tabaci* por 24h para oviposição. Após esse período, os insetos adultos foram removidos e as plantas conduzidas para o laboratório para registrar o número de ovos na face abaxial do folíolo, com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Foram mantidos de 15 a 35 ovos por folíolo, o que resultou em uma média de 145 ovos por tratamento. Para a obtenção das ninfas, seguiu-se o mesmo protocolo para infestar os folíolos. A partir do quinto dia foi avaliado diariamente o número de ninfas. Foram permitidas de 15 a 35 ninfas recém-fixadas (0-24h) por folíolo, resultando em uma média de 130 ninfas por tratamento.

Os folíolos, contendo os ovos ou ninfas, foram destacados das plantas e mantidos com a face adaxial voltada para baixo em placa Petri de poliestireno (9 cm Ø). Em seguida, foram pulverizados em Torre de Potter (pressão de 5 lb/in<sup>2</sup>) com 2 mL da solução de saponinas em diferentes volumes de diluição (200; 400; 800; 1.600 ou 3.200 mg L<sup>-1</sup>) ou de água destilada esterilizada (controle). Após secos, os folíolos foram mantidos com os pecíolos apoiados em canudos plásticos e imersos em recipientes de vidro (4 mL) contendo água destilada, a fim de manter a turgescência do folíolo (BALDIN et al., 2015). Os recipientes foram mantidos em câmaras climatizadas a 25 ±1°C, UR de 60 ± 10 % e 12h de fotofase.

As eclosões das ninfas de *B. tabaci* foram quantificadas entre 5 e 12 dias após a aplicação dos tratamentos. A mortalidade das ninfas foi avaliada entre 3 e 7 dias após aplicação dos tratamentos (BALDIN et al., 2015). Foram consideradas mortas as ninfas que apresentavam alteração na cor em relação ao controle ou ressecamento do corpo do inseto (SANTANA et al., 2022).

#### **4.4.2 Repelência de adultos de *B. tabaci* ao complexo de saponinas de *A. inundata***

O experimento foi realizado em gaiolas, seguindo metodologia adaptada de Fanela; Baldin; Fujihara (2012). Cada gaiola (Figura 2) era composta por uma base de isopor (19 x 19 cm) forrada com tecido não tecido (TNT) na cor preta, contendo dois orifícios para a sustentação de recipientes de vidro contendo água destilada. A outra parte, utilizada para confinar os insetos, consistiu de um recipiente plástico (12 cm de diâmetro x 9,5 cm de altura) com fundo removido e coberto com tecido tipo *voile* para permitir a aeração.



**Figura 2.** Gaiola utilizada para estudo com chance de escolha de adultos de *Bemisia tabaci* com folíolos de feijoeiro tratados com saponinas de *Albizia inundata* ou controle (água destilada esterilizada).

Para a realização do ensaio com chance de escolha, em cada gaiola foi adicionado dois folíolos de feijoeiro, um foi previamente mergulhado por 20 s em solução com saponinas (200; 400; 800; 1.600 ou 3.200 mg L<sup>-1</sup>) e o outro em água destilada esterilizada (controle). Após esse procedimento, os folíolos foram mantidos com o pecíolo apoiado em canudo plástico e imersos em recipiente de vidro (4 mL) contendo água destilada, a fim de manter sua turgescência. Após evaporação do excesso de umidade dos folíolos, os recipientes foram introduzidos nas gaiolas, no interior das quais foram liberados 30 casais de insetos adultos (60 insetos) com 0 a 48h de idade.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 16 repetições, sendo cada uma representada por uma gaiola. As gaiolas foram mantidas em sala climatizada a 25 ±1°C, UR de 60 ± 10 % e 12h de fotofase. As avaliações foram realizadas 2, 4, 6, 22 e 24 horas após liberação dos insetos, por meio da contagem dos indivíduos presentes em cada folíolo, com o auxílio

de um espelho. Esse procedimento foi adotado para evitar a movimentação dos folíolos com insetos. Após 24 h, o número de ovos por folíolo também foi quantificado (SOARES et al., 2021).

#### **4.5 Dispersão de conídios de *B. bassiana* em solução de saponinas de *A. inundata***

Para este ensaio utilizaram-se conídios puros, livre de adjuvantes, de *B. bassiana* LCB 289, proveniente do Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido. Para o preparo de cada suspensão, foi utilizado 0,001 g da massa de conídios. As suspensões foram preparadas em diferentes concentrações de saponinas (0,1; 1; 10; 100 e 1.000 mg L<sup>-1</sup>) e a suspensão preparada em Triton X-100 (0,01%) foi utilizada como controle. Cada suspensão foi agitada por dois minutos em agitador de tubos e, em seguida, uma alíquota de 10 µL foi transferida para a câmara de Neubauer para proceder a contagem sob microscópio óptico. Foram realizadas contagens aos 0, 15, 30 e 60 minutos após a agitação das soluções. Foram realizadas três repetições.

#### **4.6 Compatibilidade de *Beauveria bassiana* IBCB 66 com o complexo de saponinas de *Albizia inundata* in vitro**

##### **4.6.1 Suspensão fúngica**

Foi utilizado o isolado de *B. bassiana* IBCB 66, proveniente de uma formulação em pó (Granada, Lallemand Soluções Agrobiológicas Ltda) e mantido em placas Petri (90 cm Ø) em meio Sabouraud Dextrose Yeast Agar (SDY-A) (10 g peptona, 10 g extrato de levedura, 40 g dextrose, 20 g de ágar). A suspensão fúngica foi preparada a partir da raspagem de conídios de uma cultura com 14 dias de idade em meio SDY-A. Os conídios foram transferidos para um Eppendorf contendo 1 mL de solução de Triton X-100 0,01% e homogeneizados no agitador de tubos por um minuto. Em seguida, uma alíquota de 10 µL foi transferida para uma câmara de Neubauer para realização da contagem de conídios, em microscópio óptico, e padronização da suspensão. A suspensão fúngica utilizada nos ensaios continha 1 x 10<sup>8</sup> conídios mL<sup>-1</sup>.

#### 4.6.2 Germinação

Foi utilizado o meio de cultura Sabouraud Dextrose Yeast (SDY) (10 g peptona, 10 g extrato de levedura, 40 g dextrose), sendo avaliadas cinco concentrações de saponinas (0,1; 1; 10; 100; 1.000 mg L<sup>-1</sup>), o meio sem adição de saponinas foi utilizado como controle. O meio SDY foi transferido para tubos Falcon e as concentrações de saponinas estabelecidas foram adicionadas e homogeneizadas. O ensaio de germinação foi realizado em placa de microtitulação. Em cada poço, foram adicionados 100 µL do meio SDY contendo as saponinas e 10 µL da suspensão fúngica. As placas foram mantidas em câmara climatizada sob temperatura de 28 ±1°C. Para cada tratamento foram realizadas 4 repetições.

Após 17 horas, adicionou-se 50 µL de uma solução de azul de metileno (2%) e ácido láctico nos poços, para interromper o processo de germinação dos conídios (SOARES et al., 2017), e realizou-se a avaliação por meio da contagem de 100 conídios, por repetição, em microscópio óptico. Foram considerados germinados os conídios que apresentaram tubo germinativo maior ou igual ao diâmetro do conídio.

#### 4.6.3 Crescimento micelial, produção e germinação

Para a realização desse teste, foi utilizado o meio de cultura Sabouraud Dextrose Yeast Agar (SDY-A). Foram avaliadas cinco concentrações de saponinas (0,1; 1; 10; 100 e 1.000 mg L<sup>-1</sup>) e o meio SDY-A sem adição de saponinas foi utilizado como controle. O meio foi transferido para tubos Falcon mantidos em banho maria (45 a 50 °C) e as concentrações de saponinas estabelecidas foram adicionadas, homogeneizadas e vertidas em placas de Petri de vidro (6 cm Ø). Adicionou-se 10 µL da suspensão fúngica do isolado IBCB 66 no centro de cada placa, as quais foram tampadas, vedadas com plástico filme e incubadas à 28 ±1 °C.

O crescimento micelial foi avaliado, a partir do quarto dia, até que no tratamento controle o fungo atingisse a borda da placa. Para essa avaliação, foram medidos dois diâmetros perpendiculares previamente marcados no fundo da placa de Petri.

Ao final do ensaio de crescimento micelial, a produção de conídios foi avaliada. Para verificar a produção de conídios, foi coletado um disco micelial (0,5 cm Ø) próximo ao centro da placa, com o auxílio de um canudo esterilizado. O disco foi transferido para um Eppendorf contendo 1 mL de solução de Triton X-100 (0,01%) e homogeneizado em agitador de tubos por um minuto. Após esse procedimento, uma alíquota de 10 µL foi transferida para uma câmara de Neubauer para a realização da contagem em microscópio óptico. Quando necessário, foi realizada a diluição da solução com Triton X-100 (0,01%). O número de conídios foi determinado pela fórmula:  $Y = N/A$ , em que Y é o número de conídios  $\text{cm}^{-2}$ , N é o número de conídios no disco e A é a área do disco.

Para a avaliação da germinação dos conídios produzidos em meio contendo saponinas, transferiu-se uma alíquota de 10 µL da suspensão de conídios, obtida anteriormente no ensaio de produção de conídios, para uma placa de Petri contendo o meio SDY-A. Após 17 h, adicionou-se 50 µL de uma solução de azul de metileno (2%) e ácido láctico e foram avaliados o número de conídios germinados por meio da contagem de 100 conídios, por repetição, em microscópio óptico.

A compatibilidade entre o fungo e as saponinas foi determinada a partir da fórmula de índice biológico (IB):  $IB = [47(CV) + 43(ESP) + 10(GERM)]/100$ , sendo CV: porcentagem de crescimento vegetativo da colônia em relação à testemunha, ESP: porcentagem de esporulação das colônias e GERM: porcentagem de germinação dos conídios em 17 horas. A partir dos resultados as concentrações crescentes de saponinas foram classificadas como: tóxicas (IB entre 0 e 41), moderadamente tóxicas (IB entre 42 e 66) ou compatíveis (IB acima de 66) (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

#### **4.7 Efeito da combinação de *B. bassiana* IBCB 66 com o complexo de saponinas de *A. inundata* sobre *B. tabaci***

##### **4.7.1 Ovos e ninfas**

A infestação dos folíolos para a obtenção de ovos e ninfas foi realizada de forma semelhante à apresentada na seção 4.4.1. Os folíolos contendo os ovos ou ninfas foram destacados das plantas e mantidos com a face adaxial para baixo em placa de Petri de poliestireno (9 cm Ø) forrada com papel filtro e

umedecida com 1 mL de água destilada esterilizada para manter a turgescência do folíolo. Em seguida, as placas foram pulverizadas em Torre de Potter (pressão de 5 lb/in<sup>2</sup>) com 1 mL da suspensão. Para os tratamentos foi utilizada a formulação em pó de *B. bassiana* IBCB 66, em diferentes volumes de diluição (10<sup>4</sup>; 10<sup>5</sup>; 10<sup>6</sup>; 10<sup>7</sup> e 10<sup>8</sup> conídios mL<sup>-1</sup>), dispersa em solução de saponinas (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton X-100 (0,01%). O controle consistiu de folíolos pulverizados apenas com solução de saponinas (1.000 mg L<sup>-1</sup>), Triton X-100 (0,01%) ou água destilada. As placas foram secas ao ar, tampadas e transferidas para câmara climatizada à 25 ±1 °C.

Foram realizadas 6 repetições. O número de ninfas eclodidas foi avaliado de 5 a 8 dias após o tratamento e a mortalidade de ninfas foi avaliada de 3 a 6 dias após a aplicação dos tratamentos. Foram consideradas mortas as ninfas que apresentaram algum sinal de desidratação, mudança de coloração em relação ao controle, colonização, crescimento micelial ou esporulação do fungo.

#### 4.7.2 Adultos

Para este ensaio foram utilizadas gaiolas semelhantes às descritas na seção 4.4.2, sendo que cada gaiola continha apenas um folíolo tratado. As duas faces de cada folíolo foram pulverizadas em Torre de Potter (pressão de 5 lb/in<sup>2</sup>) com 1 mL da suspensão de *B. bassiana* IBCB 66 (1 x 10<sup>8</sup> conídios mL<sup>-1</sup>) diluída em saponinas (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton (0,01%). O controle consistiu de folíolos pulverizados apenas com saponinas (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton (0,01%). Os folíolos foram deixados para secar na temperatura ambiente. Em seguida, os pecíolos foram imersos em água destilada e foram introduzidos nas gaiolas, juntamente com 30 casais de insetos adultos (60 insetos), com 0 a 24h de idade. As gaiolas foram mantidas em câmara climatizada a 25 ±1°C. Para cada tratamento foram conduzidas seis repetições.

Após 48 horas da pulverização, a mortalidade de adultos foi avaliada. Indivíduos que não apresentavam esporulação eram mantidos em câmara úmida até que fosse possível observar a esporulação para confirmar a morte pelo fungo. A folha pulverizada também foi retirada da gaiola e uma nova folha não tratada foi introduzida. Esse procedimento foi repetido durante a condução do experimento, por um período de 10 dias.

## 4.8 Análises estatísticas

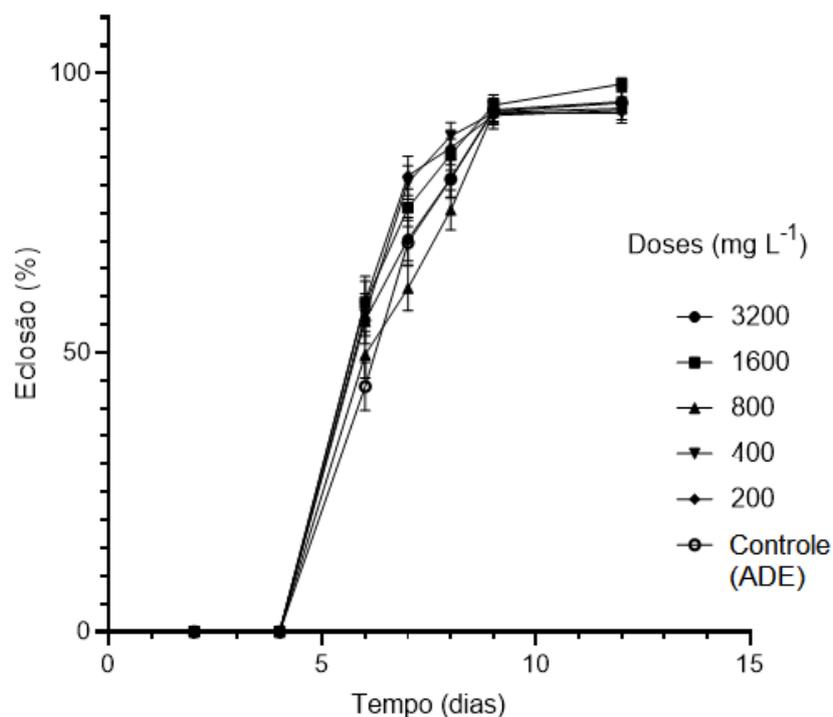
Os dados obtidos a partir dos ensaios da aplicação de saponinas sobre ovos e ninfas foram submetidos à análise de sobrevivência de Kaplan-Meier (KAPLAN; MEIER, 1958) e foi aplicado o teste de log-rank ( $p < 0,05$ ), com auxílio do software GraphPad Prism versão 8.0.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA). Para a análise de variância ( $p < 0,05$ ), os dados de repelência foram transformados em arcseno  $\sqrt{X/100}$ , os de dispersão de conídios e produção de conídios foram transformados em  $\log_{10}(X)$  e os demais (germinação, crescimento micelial e germinação de conídios produzidos em meio contendo saponinas) não sofreram transformação. Para os dados a respeito da combinação de *B. bassiana* com saponinas sobre ovos, foram utilizados modelos lineares generalizados com distribuições binomiais e as médias foram comparadas pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o software R. Os dados referentes aos ensaios da combinação de saponinas com *B. bassiana* sobre ninfas foram submetidos à análise de Probit e as curvas comparadas pelo teste de paralelismo. Já os dados referentes a combinação de saponinas com *B. bassiana* sobre adultos, foi realizada uma análise de sobrevivência de Kaplan-Meier e aplicados os testes de log-rank e Gehan-Breslow-Wilcoxon ( $p < 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Ação do complexo de saponinas de *A. inundata* sobre *B. tabaci*

#### 5.1.1 Ovos e ninfas

As saponinas de *A. inundata* não apresentaram efeito sobre a porcentagem final de eclosão das ninfas de *B. tabaci* ( $p = 0,0975$ ) e sobre a curva de eclosão acumulada ao longo do tempo ( $p = 0,6898$ ) (Figura 3), o que possibilitou a eclosão de mais de 90% das ninfas em todos os tratamentos ao longo dos 12 dias de avaliação.

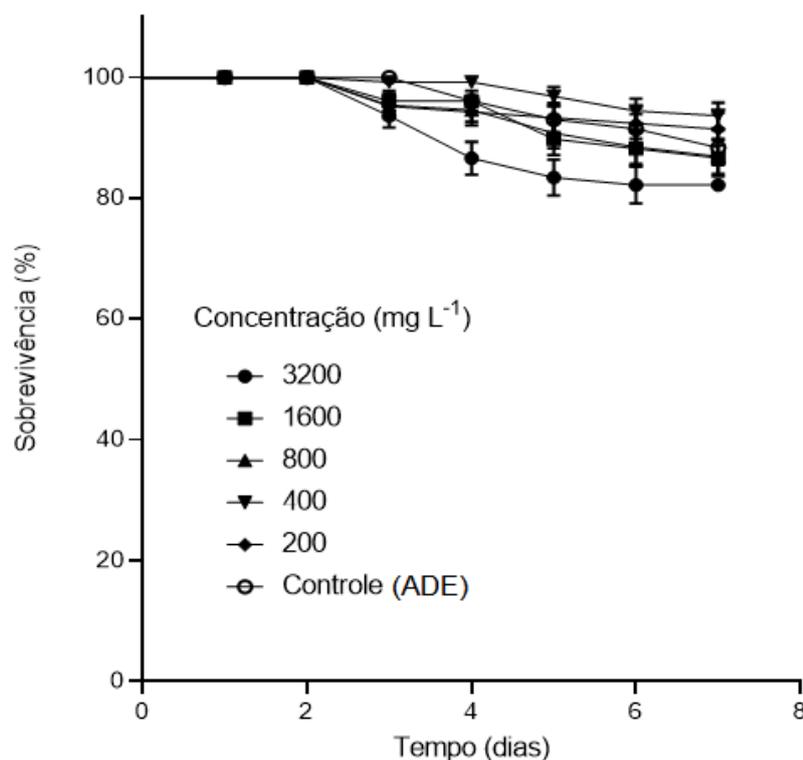


**Figura 3.** Porcentagem de eclosão de ninfas de *Bemisia tabaci* após pulverização com concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

A fase de ovo é mais resistente ao tratamento com inseticidas que os demais estágios (PRABHAKER; TOSCANO; COUDRIET, 1989). Outros autores investigaram a ação ovicida de óleos botânicos, como óleo de nim, citrus, gergelim e mamona, sobre ovos de *B. tabaci* e observaram que essas substâncias apresentaram baixa ou nenhuma toxicidade (MARQUES et al., 2014). Entretanto, saponinas extraídas de frutos de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) causaram redução na eclosão de ninfas de *B. tabaci* ( $\text{CL}_{50} = 98,63 \text{ g L}^{-1}$ ) (BOUCHELTA; BOUGHADAD; BLENZAR, 2005).

A atividade ovicida vai depender da capacidade que uma determinada substância tem de penetrar essa estrutura. Os ovos podem apresentar uma maior tolerância ao serem expostos a substâncias tóxicas, pois o córion fornece uma proteção física que impede o contato da substância tóxica com o embrião (PRABHAKER; TOSCANO; COUDRIET, 1989; SOHRABI et al., 2011).

Também não houve efeito das saponinas de *A. inundata* sobre a sobrevivência de ninfas de segundo ínstar de *B. tabaci* ( $p = 0,0509$ ) (Figura 4). Mais de 80% das ninfas sobreviveram após 7 dias da pulverização com os tratamentos.



**Figura 4.** Efeito de concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* ( $\text{mg L}^{-1}$ ) sobre a sobrevivência de ninfas de segundo instar de *Bemisia tabaci* após pulverização.

Saponinas vegetais apresentaram toxicidade para estágios imaturos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) (BAGAVAN et al., 2008), *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) (DJEHADER et al., 2018) e *Ectropis obliqua* Prout (Lepidoptera: Geometridae) (CUI et al., 2019) quando aplicadas diretamente sobre estes insetos. Esse metabólito é capaz de desintegrar parte da cutícula desses insetos e reduzir a quitina epidérmica, ocasionando desidratação (CHAIEB et al., 2009; CUI et al., 2019)

Dessa forma, a baixa atividade das saponinas de *A. inundata* sobre ninfas pode estar relacionada com a composição da cutícula desse inseto. Ninfas e adultos de *B. tabaci* são capazes de produzir cera que recobrem seu corpo (NEAL JR et al., 1994). A epicutícula, camada mais externa do tegumento, é composta por um complexo de lipídios que podem variar com o estágio de desenvolvimento (NEAL JR et al., 1994; PEDRINI et al., 2013). Os ésteres de cera constituem um dos componentes lipídicos encontrados na cutícula e, entre suas funções, está a proteção das ninfas contra o *honeydew* excretado por elas e a impermeabilização da cutícula, impedindo a perda de água e a entrada de

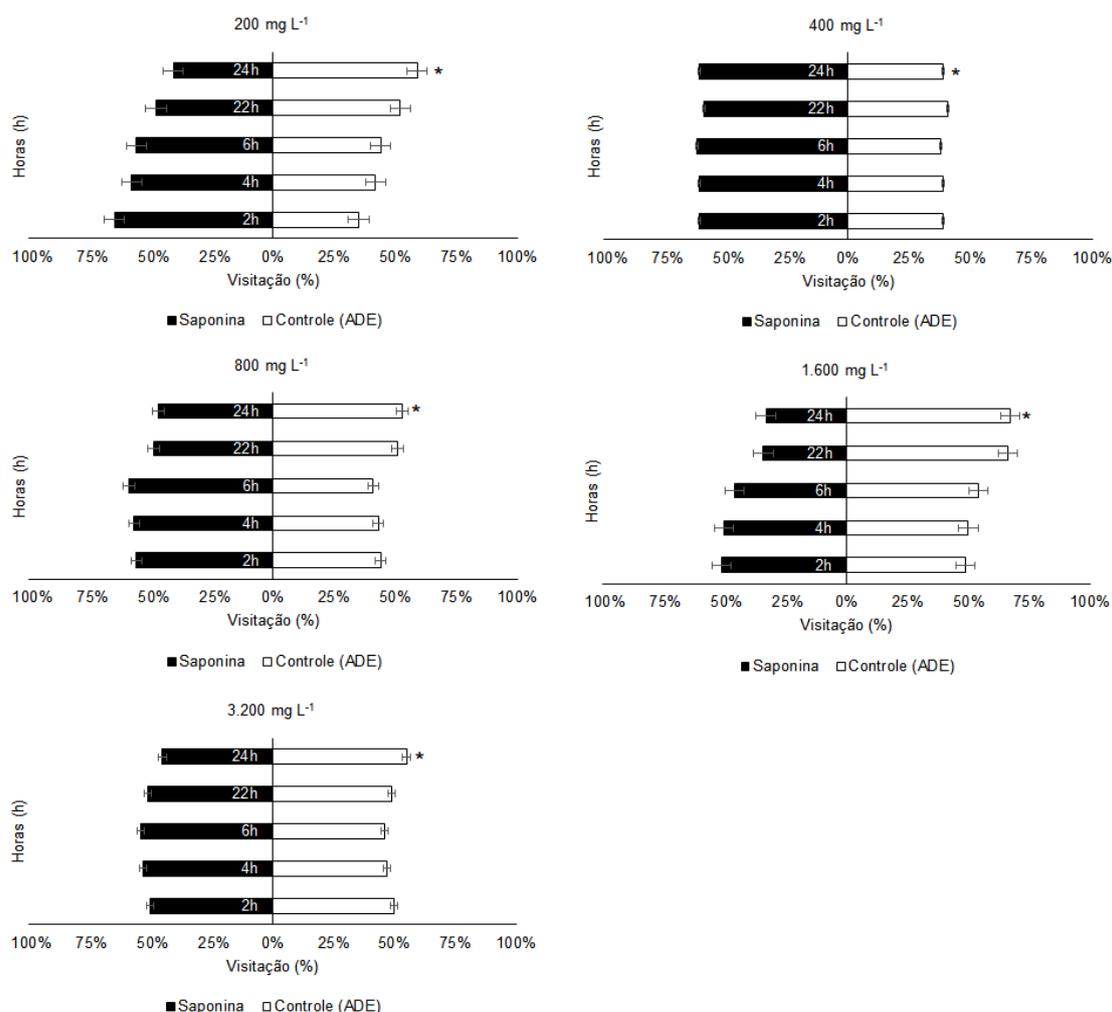
substâncias nocivas (BUCKNER; HAGEN; NELSON, 1999; PATEL; NELSON; GIBBS, 2001). Hidrocarbonetos presentes na epicutícula são capazes ainda de impedir o desenvolvimento de microrganismos patogênicos (PEDRINI et al., 2013). Em geral, o primeiro e segundo ínstar são mais susceptíveis (SOHRABI et al., 2011). Portanto, é ideal que o controle seja realizado a fim de atingir os íntares ninfais iniciais de desenvolvimento do inseto. Assim, isso leva a crer que, no presente trabalho, as saponinas de *A. inundata* não foram capazes de desestabilizar a camada cerosa da cutícula de *B. tabaci* a ponto de causar a morte do inseto.

Ainda assim, as saponinas de *A. inundata* podem ser promissoras para o controle de outros insetos-praga. O efeito deste metabólito quando ingerido pelos insetos também é uma via a ser estudada, visto que grande parte dos trabalhos que investigam a ação de saponinas vegetais sobre artrópodes-praga concentram suas pesquisas na ação por ingestão. As saponinas, quando ingeridas, foram tóxicas para *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera, Aphididae) (GEYTER et al., 2012), *E. obliqua* (CUI et al., 2019), *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (MIRHAGHPARAST et al., 2020) e *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (DOLMA et al., 2018; LIN et al., 2018; TIAN et al., 2021).

A mortalidade por ingestão ocasionada por esse metabólito ocorre por diversos fatores. As saponinas causam instabilidade na membrana celular, alterando a expressão gênica de receptores ecdisteroides, também formam complexos com esteróis e reduzem a atividade de enzimas digestivas, por causarem danos morfológicos e fisiológicos às células epiteliais do intestino médio (CUI et al., 2019; MIRHAGHPARAST et al., 2020). Isso pode resultar na redução de peso e tamanho, atraso no desenvolvimento, má formação da pupa e morte por inanição (GEYTER; GEELLEN; SMAGGHE, 2007; MIRHAGHPARAST et al., 2020; TIAN et al., 2021). Em geral, as concentrações letais são menores quando administradas via oral (GEYTER et al., 2012). Deste modo, a ação das saponinas de *A. inundata* deve ser avaliada sobre outros insetos e sua ação por ingestão também pode ser explorada.

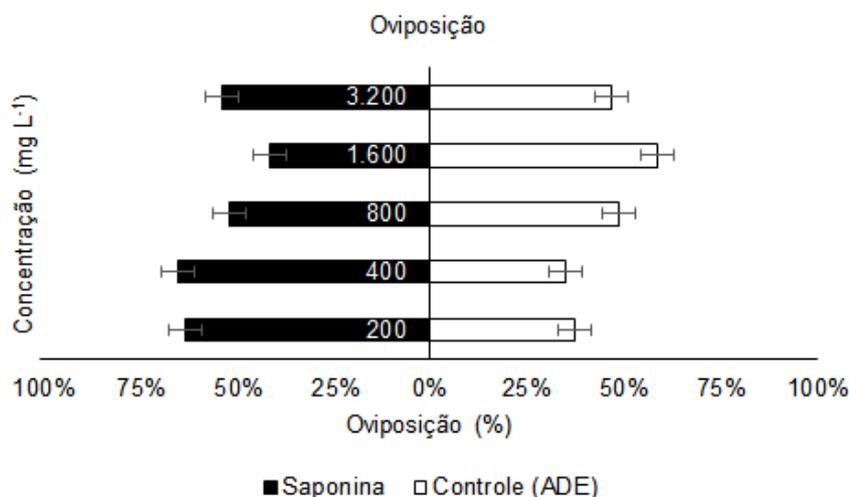
### **5.1.2 Repelência de adultos de *B. tabaci* ao complexo de saponinas de *A. inundata***

A porcentagem de visitação de adultos de *B. tabaci* não apresentou diferença entre folhas tratadas e folhas controle após 2h (F = 2,194; p = 0,078), 4h (F = 0,546; p = 0,703), 6h (F = 0,967; p = 0,431) e 22h (F = 1,749; p = 0,148) (Figura 5). Apenas com 24h que se constatou repelência. Com exceção da concentração de 400 mg L<sup>-1</sup>, houve menor visitação de *B. tabaci* nos folíolos tratados com saponinas de *A. inundata* (F = 4,159; p = 0,004).



**Figura 5.** Efeito do tempo na porcentagem de visitação de adultos de *B. tabaci* a folhas tratadas com concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* (mg L<sup>-1</sup>). \*significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Não houve preferência para oviposição de fêmeas de *B. tabaci* em folhas tratadas com diferentes concentrações de saponinas (F = 2,127; p = 0,086) (Figura 6). A redução de visitação de adultos apenas após 24h não foi suficiente para constatar uma diminuição do número de ovos de *B. tabaci*.



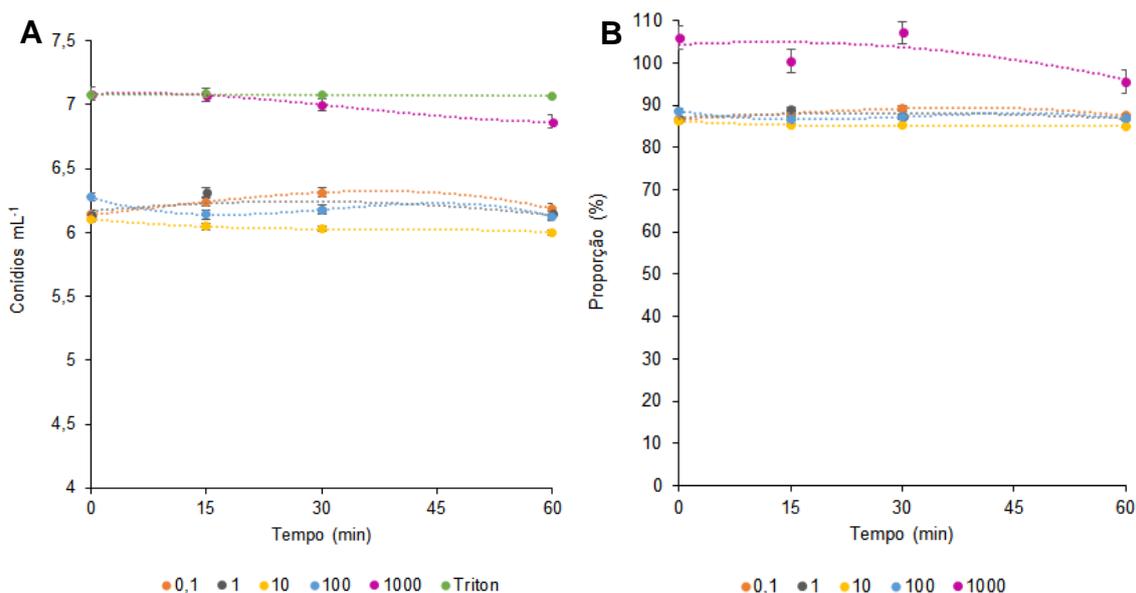
**Figura 6.** Preferência para oviposição de fêmeas de *Bemisia tabaci* a folhas tratadas com concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* (mg L<sup>-1</sup>).

Outros autores relataram a atividade repelente de saponinas vegetais sobre *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera, Aphidiae) (GEYTER et al., 2012) e *P. xylostella* (DOLMA et al., 2018), porém os trabalhos investigando o potencial repelente deste metabólito são escassos. A atividade repelente das saponinas pode acarretar em morte por inanição, bem como na interrupção de absorção de esteróis, influenciando na síntese de ecdisteroides e interferindo na ecdise, uma vez que os insetos adquirem esteróis dos alimentos (GEYTER; GEELEN; SMAGGHE, 2007). Neste trabalho, entretanto, não foi observado morte de adultos durante o período avaliado e nem redução na quantidade de ovos depositados em folhas tratadas.

## 5.2 Dispersão de conídios de *B. bassiana* LCB 289 em solução de saponinas de *A. inundata*

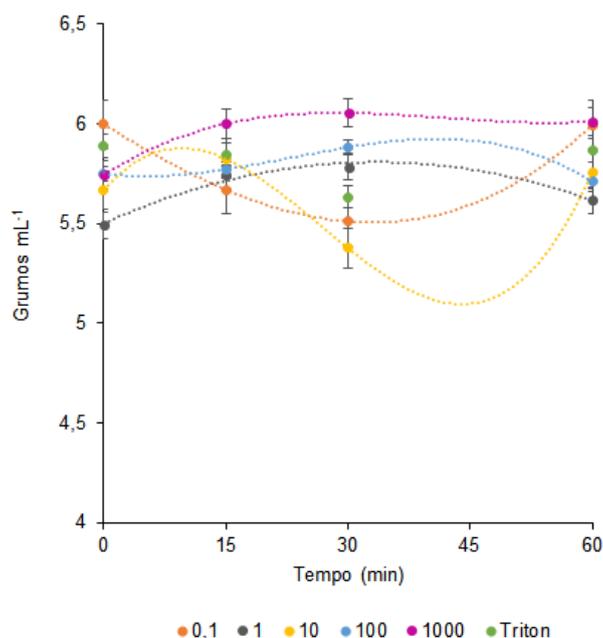
Quanto ao número de conídios de *B. bassiana* LCB 289 em suspensão (Figura 7A) verificou-se que houve efeito das diferentes concentrações da solução de saponinas de *A. inundata* na dispersão de conídios ao longo do tempo, 0 (F = 61,411; p = 0,0000), 15 minutos (F = 24,298; p = 0,0000), 30 minutos (F = 16,617; p = 0,0000) e 60 minutos (F = 3,49; p = 0,0500). As saponinas de *A. inundata*, na maior concentração avaliada (1.000 mg L<sup>-1</sup>), proporcionaram maior dispersão de conídios, assemelhando-se ao Triton X-100 aos 0, 15 e 30 minutos após agitação.

Foi observado efeito na proporção do número de conídios em suspensão para as diferentes concentrações de saponinas em relação ao controle com Triton X-100 (Figura 7B), 0 (F = 40,254; p = 0,000), 15 minutos (F = 12,978; p = 0,0010), 30 minutos (F = 9,568; p = 0,0020) e 60 minutos (F = 4,15; p = 0,0310). A proporção de conídios em suspensão foi maior na solução de saponinas (1.000 mg L<sup>-1</sup>) até os 30 minutos após agitação, apresentando uma redução de 4,48% no número de conídios em suspensão apenas aos 60 minutos.



**Figura 7.** Número de conídios de *Beauveria bassiana* em suspensão ( $\log_{10} X_{ij}$ ) (A) e proporção de conídios em relação ao Triton X-100 (0,01%) (controle) (B) ao longo do tempo para concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* (mg L<sup>-1</sup>).

Em relação ao número de agregados de conídios de *B. bassiana* (Figura 8), verificou-se que não há efeito das diferentes concentrações da solução de saponinas no número de grumos ao longo do tempo de avaliação, 0 (F = 1,093; p = 0,4110), 15 minutos (F = 0,96; p = 0,4700), 30 minutos (F = 1,024; p = 0,4410) e 60 minutos (F = 2,131; p = 0,1510). Também não há efeito em relação a proporção de agregados de conídios quando comparado ao controle com Triton X-100 aos 0 (F = 1,417; p = 0,2970), 15 minutos (F = 1,084; p = 0,4150), 30 minutos (F = 0,966; p = 0,4670) e 60 minutos (F = 2,27; p = 0,1340).



**Figura 8.** Número de grumos de *Beauveria bassiana* em suspensão ao longo do tempo para concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* (mg L<sup>-1</sup>) ou Triton X-100 (controle). Valores transformados em  $\log_{10}^{x_{ij}}$ .

Estes resultados evidenciam a capacidade dispersante das saponinas de *A. inundata*. A maior parte das saponinas relatadas na literatura que apresentam propriedade adjuvante são classificadas como triterpenóides e essa propriedade está relacionada com a estrutura da molécula de saponina, que são anfífilas, apresentando uma parte hidrofílica e outra lipossolúvel (SONG; HU, 2009; TMÁKOVÁ; SEKRETÁR; SCHMIDT, 2016).

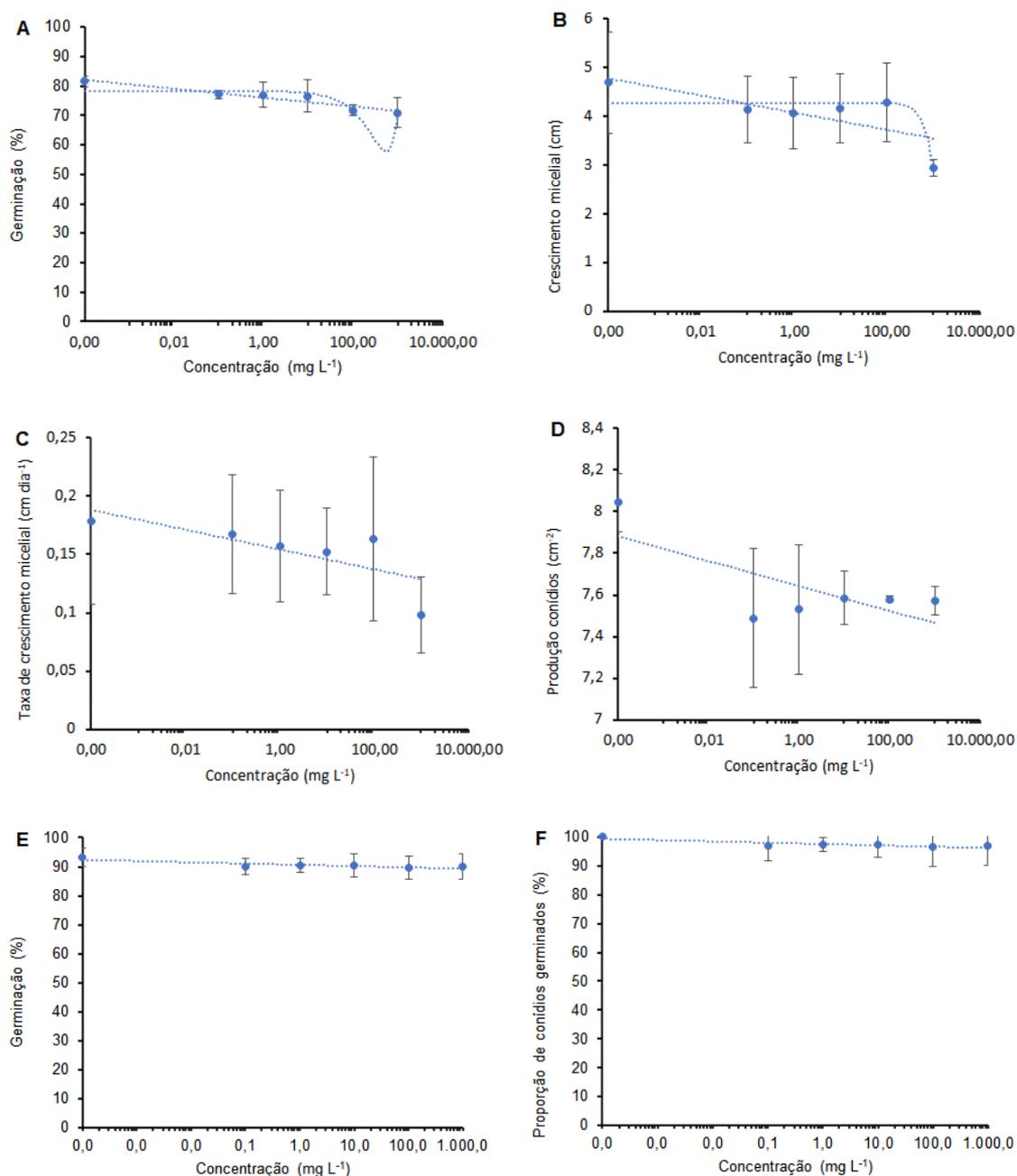
Diferente do que foi encontrado nesta pesquisa, o surfactante comercial a base de saponinas esteroidais de *Yucca schidigera* Roezl ex Ortgies (Asparagaceae) não foi eficaz na dispersão de blastósporos de *Metarhizium brunneum* e *Cordyceps fumosorosea*, não sendo capaz de desfazer os agregados, impossibilitando a contagem, além disso, não foi compatível com esses fungos (DUNLAP; BEHLE; JACKSON, 2014). No presente trabalho, os resultados expressos mostram que, além de conseguir desfazer os agregados de conídios, as saponinas de *A. inundata*, até os 30 minutos após agitação, conseguem manter um número de conídios em suspensão semelhante ao Triton X-100. Aos 60 minutos, há uma queda nesse número, indicando que as saponinas conseguem dispersar os conídios, mas sua capacidade de manter os conídios em suspensão ao longo do tempo é um pouco menor.

Para que um surfactante possa dispersar conídios com eficiência, é necessário que sua concentração seja suficiente para formar micelas, uma vez

que são estas que se prendem aos conídios, fazendo com que sejam facilmente misturados com a água (MELO et al., 2020). Além disso, foi observado que a concentração de esporos diminui à medida em que o tempo de incubação aumenta, isso pode ocorrer devido ao início da germinação e formação de hifas, fazendo com que haja a precipitação dos conídios (MISHRA; KUMAR; MALIK, 2013). A formação de espuma também dificulta a dispersão (JIN et al., 2008). Já a capacidade de manter o conídio por mais tempo em suspensão pode estar relacionada com a propriedade que alguns surfactantes possuem de se acumular ao redor do conídio, retardando a germinação (MISHRA; KUMAR; MALIK, 2013). Assim como, os surfactantes que conseguem reduzir o tempo de molhamento apresentam maior número de conídios em suspensão (MELO et al., 2020).

### **5.3 Compatibilidade de *Beauveria bassiana* IBCB 66 com as saponinas de *Albizia inundata in vitro***

No experimento de germinação de conídios de *B. bassiana* IBCB 66, observou-se que as diferentes concentrações de saponinas reduziram a germinação ( $F = 4,633$ ;  $p = 0,007$ ) (Figura 9A). Ainda assim, na concentração de saponinas que causou maior redução ( $1.000 \text{ mg L}^{-1}$ ), foi possível obter 70,88% de germinação. Não houve efeito no crescimento micelial aos 14 ( $F = 2,724$ ;  $p = 0,053$ ) e aos 20 dias ( $F = 2,542$ ;  $p = 0,066$ ) (Figura 9B) e nem sobre a taxa de crescimento micelial por dia ( $F = 1,102$ ;  $p = 0,393$ ) (Figura 9C). As diferentes concentrações de saponinas reduziram a produção de conídios ( $F = 9,75$ ;  $p = 0$ ) (Figura 9D). Não houve efeito das saponinas sobre a germinação de conídios produzidos em meio contendo saponinas ( $F = 0,508$ ;  $p = 0,767$ ) (Figura 9E) e sobre a proporção de conídios germinados em relação ao controle ( $F = 0,286$ ;  $p = 0,914$ ) (Figura 9F).



**Figura 9.** Porcentagem de Germinação (%) (A), crescimento micelial (cm) (B), taxa de crescimento micelial aos 20 dias (cm dia<sup>-1</sup>) (C), produção de conídios (cm<sup>-2</sup>) (D), germinação de conídios produzidos em meio contendo saponinas (%) (E) e proporção de conídios germinados em relação ao controle (%) (F) de *Beauveria bassiana* IBCB 66 submetidos a concentrações crescentes de saponinas de *Albizia inundata* (mg L<sup>-1</sup>).

Ao escolher um surfactante para aplicação de fungos entomopatogênicos é necessário que esses produtos promovam uma boa dispersão dos agentes, mas que também sejam compatíveis com eles, a fim de não interferir de maneira negativa em sua ação contra insetos (WENZEL et al., 2003; MASCARIN et al., 2014). Surfactantes sintéticos, iônicos e não-iônicos, podem causar a perda de viabilidade de conídios, retardar a germinação, reduzir o crescimento micelial e

diminuir a produção de conídios, sendo assim considerados muito tóxicos para fungos entomopatogênicos (GATARAYIHA; LAING; MILLER, 2010; DUNLAP; BEHLE; JACKSON, 2014; MELO et al., 2020; LOEBLEIN et al., 2022).

As saponinas que podem ser utilizadas como surfactante também podem apresentar efeitos adversos aos fungos. Os resultados encontrados no presente trabalho sugerem que os danos causados pela exposição de conídios de *B. bassiana* à solução de saponinas de *A. inundata* na concentração mais elevada (1.000 mg L<sup>-1</sup>) são moderados (Tabela 1). Apesar de haver redução na germinação, o crescimento fúngico não é comprometido. A produção de conídios é afetada, porém a viabilidade dos conídios não.

**Tabela 1.** Índice biológico (IB) e classificação quanto a compatibilidade de concentrações crescentes do complexo de saponinas de *Albizia inundata* com *Beauveria bassiana* IBCB 66.

Concentrações mg L <sup>-1</sup>	IB	Classificação
1000	52,03	Moderadamente tóxico
100	65,63	Moderadamente tóxico
10	65,51	Moderadamente tóxico
1	64,62	Moderadamente tóxico
0,1	64,99	Moderadamente tóxico

Há evidências de que saponinas vegetais inibiram a germinação de *Pestalotiopsis theae* (YANG; ZHANG, 2012), e que o surfactante comercial a base de saponinas de *Y. schidigera* reduziu para 34% a germinação de conídios de *B. bassiana* (DUNLAP; BEHLE; JACKSON, 2014). Foi observado ainda que a saponina de *Camellia* sp. causou anormalidades na produção de tubos germinativos, espessamento da parede celular e formação de edemas (HAO et al., 2010). A germinação é a primeira etapa no processo de infecção e afetar esse mecanismo pode causar uma menor eficácia do fungo (LOEBLEIN et al., 2022).

Já o crescimento vegetativo está relacionado com a taxa de infecção do hospedeiro (MELO et al., 2020). Diferente dos resultados encontrados neste trabalho, moléculas de saponina foram relatadas reduzindo ou inibindo o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos como *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Sorauer, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Botrytis tulipae* Lib., *Colletotrichum coccodes* Wallr, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum*,

*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Penicillium digitatum* Sacc., *Penicillium italicum* Wehmer, *Rhizoctonia solani* JG Kühn e *Verticillium dahliae* Kleb. (SANIEWSKA et al., 2006; BARILE et al., 2007; CHAPAGAIN; WIESMAN; TSROR, 2007; HAO et al., 2010).

Essa bioatividade das moléculas de saponina sobre células fúngicas está relacionada com sua estrutura. Saponinas monodesmosídicas, que possuem uma única cadeia de açúcar na aglicona, exibem maior atividade biológica quando comparadas com saponinas bidesmosídicas, que possuem duas cadeias de açúcares. (SANIEWSKA et al., 2006; STUARDO; SAN MARTÍN, 2008). Os grupos funcionais em diferentes posições na aglicona também são características estruturais que podem estar relacionadas com a capacidade antifúngica da molécula de saponina (NGO et al., 2019).

Essa estrutura da saponina permite a interação com outras moléculas, causando diversos danos às células fúngicas expostas a esse metabólito. As saponinas ligam-se a esteróis da bicamada lipídica, formando poros, que faz com que a membrana perca sua capacidade de seletividade e ocorra a entrada de substâncias na célula e perda de conteúdo celular, como proteínas solúveis e açúcares redutores (BARILE et al., 2007; COLEMAN et al., 2010; INAGAKI et al., 2013; ZAYNAB et al., 2021). Quanto maior a hidrofobicidade da molécula de saponina, maior afinidade por esteróis encontrados nas membranas celulares fúngicas (STUARDO; SAN MARTÍN, 2008). Também já foi relatado que pode haver a indução na atividade da quitinase em micélios expostos a saponinas e estimular a desintegração da membrana plasmática e o vazamento do citoplasma, podendo levar à morte celular (YANG; ZHANG, 2012). Os mesmos autores verificaram alterações morfológicas que foram encontradas em micélios tratados com saponina, essas estruturas apresentaram flexão, entrelaçamento, colapso, desorganização e quebra induzida da parede celular.

#### **5.4 Ação de conídios de *B. bassiana* IBCB 66 dispersos em saponinas de *A. inundata* sobre *B. tabaci***

Os conídios de *B. bassiana* quando dispersos em solução de saponinas de *A. inundata* provocaram a mortalidade de ovos de *B. tabaci* (Tabela 2). Na maior concentração avaliada ( $1 \times 10^8$  conídios mL<sup>-1</sup>), houve 33,32% de mortalidade de ovos, assemelhando-se ao tratamento em que a mesma

concentração de conídios foi dispersa em Triton, ambos tratamentos diferiram do controle (Triton).

**Tabela 2.** Mortalidade (%) de ovos de *Bemisia tabaci* pulverizados com concentrações crescentes de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* (1.000 mg L<sup>-1</sup>) ou Triton X-100 (0,01%).

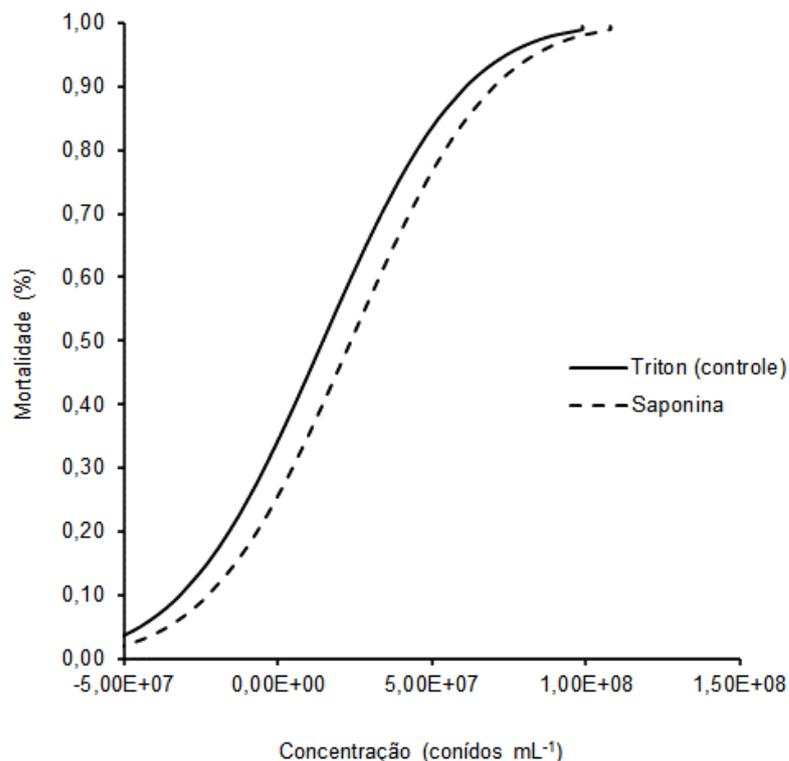
<b>Tratamentos (conídios mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Mortalidade ± EP (%)</b>
Saponina	16,13 ± 3,6935 bc
1 x 10 <sup>4</sup> + Saponina	16,98 ± 2,8438 bc
1 x 10 <sup>5</sup> + Saponina	25,44 ± 2,9580 ac
1 x 10 <sup>6</sup> + Saponina	24,84 ± 3,2801 ac
1 x 10 <sup>7</sup> + Saponina	25,97 ± 2,9580 ac
1 x 10 <sup>8</sup> + Saponina	33,32 ± 3,0439 abd
Triton	13,95 ± 2,4205 c
1 x 10 <sup>4</sup> + Triton	15,89 ± 2,2049 c
1 x 10 <sup>5</sup> + Triton	24,43 ± 2,4013 c
1 x 10 <sup>6</sup> + Triton	23,49 ± 2,8210 cd
1 x 10 <sup>7</sup> + Triton	23,36 ± 3,2424 cde
1 x 10 <sup>8</sup> + Triton	35,13 ± 3,4917 ae
Água destilada	14,28 ± 2,8726 c

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Já foi observado baixa patogenicidade de *B. bassiana* sobre ovos de *B. tabaci* (NEGASI; PARKER; BROWNBRIDGE, 1998). Assim como, há estudo com isolados de *B. bassiana* que não mostraram efeito sobre a eclosão de ninfas desse inseto (JANG; PARK; LIM, 2023). Outros fungos entomopatogênicos, como *Lecanicillium longisporum*, *Verticillium lecanii* e *Cordyceps fumosorosea*, apresentaram pouco ou nenhum efeito sobre a eclosão de ninfas de *B. tabaci* (LACEY et al., 1999; GINDIN et al., 2000; PANAHI; LONI, 2013).

Mesmo em altas concentrações de conídios, os ovos possuem menor susceptibilidade ao tratamento com fungos. Além da proteção física fornecida pelo córion, que pode dificultar a entrada de tubos germinativos e apressórios, a morfologia do ovo, com extremidade pontiaguda, faz com que a superfície de contato seja menor, dificultando que os conídios o atinjam durante a pulverização (JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003). Porém, há possibilidade de ninfas recém-eclodidas se contaminarem com o residual que permanece nas superfícies foliares (MASCARIN et al., 2013).

Não houve efeito da saponina sobre a mortalidade de ninfas ( $p = 0,175$ ), indicando que os surfactantes (Saponinas e Triton X-100) possuem comportamento similar. Na maior dose, em ambos surfactantes, *B. bassiana* IBCB 66 causou mortalidade superior a 90% das ninfas de *B. tabaci* (Figura 10). A CL50 foi de  $2,35$  e  $1,44 \times 10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  e a CL90 foi de  $6,99$  e  $6,08 \times 10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  para saponinas de *A. inundata* e Triton X-100, respectivamente, sem diferença entre os tratamentos.



**Figura 10.** Mortalidade de ninfas de segundo instar de *Bemisia tabaci* pulverizados com concentrações crescentes de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* ( $1.000 \text{ mg L}^{-1}$ ) ou Triton X-100.

Dessa forma, apesar das saponinas de *A. inundata* apresentarem redução na germinação e na produção de conídios de *B. bassiana* IBCB 66, não houve diminuição na ação do fungo sobre ninfas de *B. tabaci*, quando comparadas com o tratamento controle, assim, a ação das saponinas como dispersante de formulação em pó para o controle de *B. tabaci* iguala-se ao Triton X-100. Entretanto, a toxicidade moderada causada pelas saponinas, pode interferir no processo de esporulação deste fungo no cadáver do inseto, diminuindo a dispersão e manutenção desse fungo em campo. Ainda assim, as saponinas podem ser uma alternativa aos surfactantes sintéticos e apresentam a vantagem

de serem biodegradáveis (PRADHAN; BHATTACHARYYA, 2017; RAI et al., 2021).

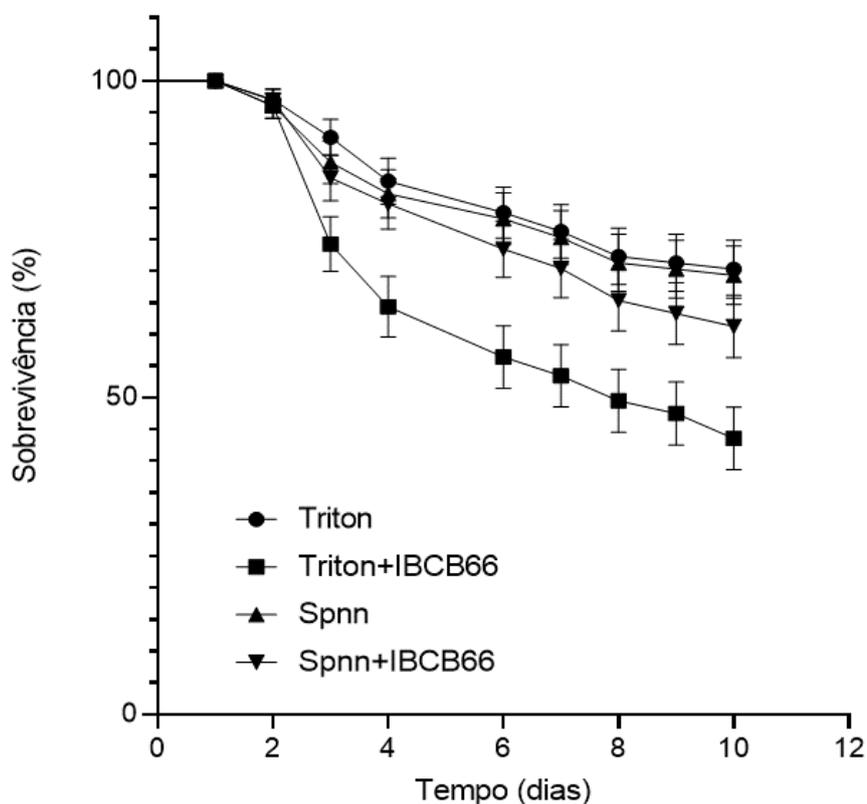
Além disso, as saponinas vegetais podem promover uma maior retenção dos agentes de controle, químicos ou biológicos, na superfície-alvo, o que pode melhorar a eficácia, fazendo com que eles consigam causar mortalidade (INAGAKI et al., 2013). Quanto maior o coeficiente de viscosidade cinemática da saponina, maior a adesão na superfície do inseto (CUI et al., 2019).

Lipídios cuticulares podem atuar inibindo a germinação de conídios, por toxicidade ou por serem uma barreira física (JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003). Os surfactantes podem extrair compostos lipossolúveis e proteínas, causando alterações na cutícula do inseto, isso favorece o fungo, uma vez que as enzimas de degradação vão atuar em uma cutícula mais frágil (ARNOSTI et al., 2019; MELO et al., 2020; LOEBLEIN et al., 2022). Quanto mais lipofílicos, maior capacidade de penetração na cutícula, uma vez que essa estrutura é composta por um complexo de lipídios (KIM; JE, 2010). Além disso, os conídios podem ser eliminados pelo inseto durante o processo de ecdise, então quanto mais rápido for o processo de infecção, maior a garantia de sucesso no controle (AKBAR et al., 2005; GATARAYIHA; LAING; MILLER, 2010). Neste trabalho, a mortalidade de ninfas começou a ser observada a partir do terceiro dia após a aplicação dos tratamentos.

A patogenicidade de *B. bassiana* sobre ninfas muitas vezes pode atingir valores superiores a 90%, a depender do isolado, da planta hospedeira e do estágio de vida do inseto, podendo causar morte a partir do segundo dia após a aplicação (HUANG et al., 2010; MASCARIN et al., 2013; ZAFAR et al., 2016; JAVED et al., 2019; JANG; PARK; LIM, 2023). Em geral, ínstares tardios possuem menor susceptibilidade (JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003). Há ainda a possibilidade de que ninfas tratadas, mas que não apresentaram mortalidade, desenvolverem adultos deformados, reduzindo sua longevidade e fecundidade. Isso pode ocorrer porque as ninfas afetadas pelo processo inicial de infecção podem apresentar um desbalanço nutricional (HUANG et al., 2010).

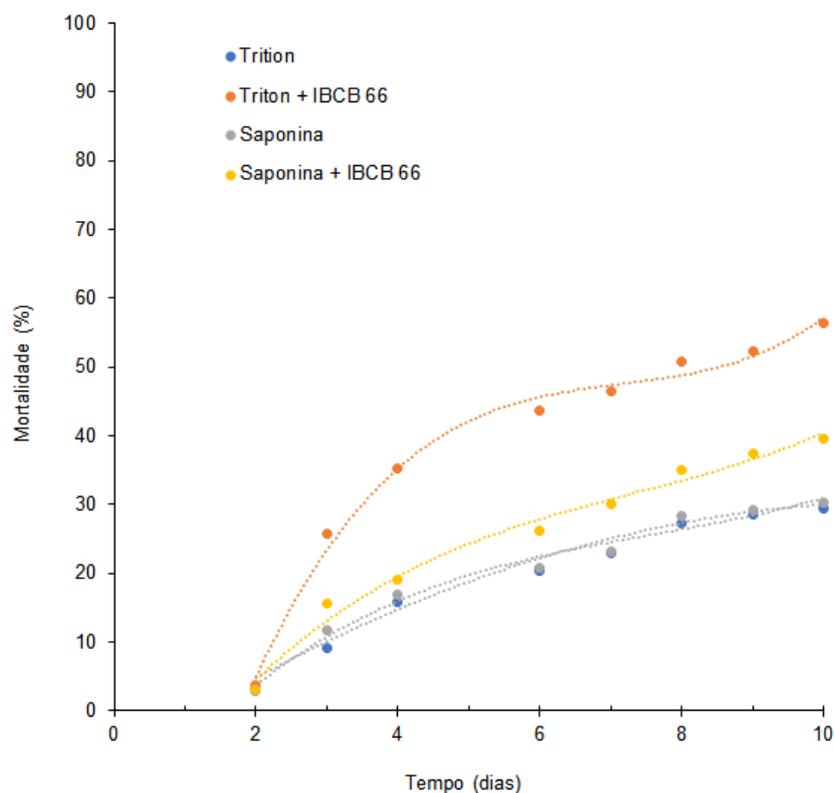
O bioensaio de *B. bassiana* sobre adultos de *B. tabaci* mostrou que houve efeito dos tratamentos sobre a porcentagem final de sobrevivência ( $p < 0,0001$ ), havendo diferença entre eles ( $p < 0,0001$ ) (Figura 11). Não houve efeito das saponinas de *A. inundata* e da combinação saponinas + *B. bassiana* IBCB 66 sobre a sobrevivência dos adultos ( $p = 0,2655$ ), não diferindo entre si ( $p =$

0,3049). O tratamento Triton + *B. bassiana* IBCB 66 apresentou efeito sobre a sobrevivência de adultos ( $p < 0,0001$ ) quando comparado com os tratamentos Triton ( $p < 0,0001$ ) e saponinas + *B. bassiana* IBCB 66 ( $p = 0,00910$ ). Apenas 43,65% dos insetos adultos conseguiram alcançar o décimo dia quando as folhas foram tratadas com Triton + *B. bassiana* IBCB 66, os demais tratamentos permitiram que mais de 50% dos insetos permanecessem vivos após o contato com os tratamentos.



**Figura 11.** Sobrevivência de adultos de *Bemisia tabaci* submetidos ao contato residual de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* (1.000 mg L<sup>-1</sup>) (Spnn) ou Triton X-100.

Após 10 dias da aplicação dos tratamentos, Triton + *B. bassiana* IBCB 66 causou mortalidade média de 56,35% dos adultos de *B. tabaci*, enquanto o tratamento saponinas + *B. bassiana* IBCB 66 causou 39,62% de mortalidade. Este último sendo semelhante aos controles, em que foi pulverizado apenas saponinas ou Triton X-100, que causaram 30,19 e 29,39% de mortalidade, respectivamente (Figura 12).



**Figura 12.** Mortalidade de adultos de *Bemisia tabaci* submetidos ao contato residual de conídios de *Beauveria bassiana* IBCB 66 dispersos em solução de saponinas de *Albizia inundata* ( $1.000 \text{ mg L}^{-1}$ ) ou Triton X-100.

É desejável que um agente de controle microbiológico seja capaz de afetar todos os estágios de vida do inseto-alvo, além disso, é interessante que o fungo consiga exteriorizar o cadáver, a fim de disseminar os conídios produzidos (WANG et al., 2021; GEBREMARIAM; CHEKOL, ASSEFA, 2022). A fase adulta de *B. tabaci* apresenta uma maior tolerância aos tratamentos em relação às ninfas (PRABHAKER; TOSCANO; COUDRIET, 1989; GEBREMARIAM; CHEKOL, ASSEFA, 2022). Ainda assim, diferentes isolados de *B. bassiana* são relatados na literatura como patogênicos para adultos de *B. tabaci*, a taxa de mortalidade varia de acordo com a densidade de conídios e o isolado fúngico utilizado (BUGTI et al., 2018; BHADANI et al., 2021).

Os isolados ARP14 e GHA de *B. bassiana* não apresentaram efeito sobre a taxa de mortalidade de adultos de *B. tabaci*, porém os tempos letais foram reduzidos em relação ao controle (JANG; PARK; LIM, 2023). A menor susceptibilidade de adultos em relação às ninfas pode estar relacionada com a proteção exercida pelas asas membranosas e pela cera que recobre o corpo dos adultos de *B. tabaci*, dificultando, desse modo, a infecção fúngica (JANG; PARK; LIM, 2023). Em condições de campo, os adultos podem ser ainda menos

sensíveis em relação às ninfas, pois estão menos associados à camada limítrofe da folha, que favorece a umidade, e estão mais expostos a radiação solar, uma vez que possuem capacidade de voo (WRAIGHT et al., 2000).

Outro fator que pode influenciar na mortalidade dos insetos são os surfactantes que são utilizados para a dispersão dos fungos. No presente trabalho, as saponinas, que foram utilizadas como surfactantes, não foram capazes de causar mortalidade de adultos quando associada a *B. bassiana*. Esse resultado pode estar relacionado com os danos na germinação que esse metabólito causa aos conídios, somado ao método de aplicação dos tratamentos que, diferente das ninfas, os adultos tiveram apenas contato residual com os conídios, dificultando a aquisição desses agentes de controle pelos insetos. Loeblein et al. (2022) avaliaram a ação de diferentes adjuvantes com *B. bassiana* Unioeste 44 sobre adultos de *Gyropsylla spegazziniana* a Lizer & Trelles (Hemiptera: Aphalaridae) e observaram que alguns adjuvantes potencializam a ação do fungo entomopatogênico, enquanto outros, como Tween 80, não apresentavam nenhuma interação aditiva e/ou sinérgica. Ainda assim, componentes vegetais bioativos são uma alternativa importante para a substituição de produtos sintéticos para uso na agricultura. Dessa forma, este trabalho indica a possibilidade de que outras espécies ricas em saponinas sejam investigadas quanto ao seu potencial para a dispersão de fungos entomopatogênicos. Nessa perspectiva, a Caatinga é um bioma rico em biodiversidade, exclusivo do Brasil e que ocupa uma área superior a 912 mil km<sup>2</sup> (SILVA et al., 2017; TABARELLI et al., 2018). O bioma apresenta um potencial econômico ainda pouco valorizado, porém os produtos florestais não madeireiros podem ser uma alternativa de renda para agricultores familiares (SANTOS et al., 2003). Além disso, as saponinas podem ser encontradas na maioria das plantas e a extração desse metabólito pode ser realizada de diversos órgãos vegetais e também de resíduos vegetais descartados pela indústria (ZHU et al., 2019; SHARMA et al., 2023).

As saponinas são seguras para humanos, podendo ser aplicadas no setor agrícola, mas também na indústria alimentícia e farmacológica (ZHU et al., 2019; SHARMA et al., 2023). Este metabólito é classificado como um surfactante não-iônico (RAI et al., 2021), sendo menos citotóxico que os surfactantes catiônicos e aniônicos (CSERHÁTI; FORGÁCS; OROS, 2002). No caso do Triton X-100, apesar de ser classificado como não-iônico, apresenta citotoxicidade semelhante

aos surfactantes aniônicos (GRANT et al., 1992). Além disso, o acúmulo de resíduos de surfactantes sintéticos na água e no solo pode ocasionar a morte de seres vivos presentes nesses locais (CSERHÁTI; FORGÁCS; OROS, 2002; SCHMITT et al., 2014). Assim, as saponinas são uma importante ferramenta para uso como surfactantes por apresentarem um baixo impacto ambiental, sendo uma alternativa renovável e biodegradável aos surfactantes sintéticos (PRADHAN; BHATTACHARYYA, 2014).

## 6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O complexo de saponinas de *A. inundata* não apresentou efeitos sobre ovos e ninfas de *B. tabaci*.

A repelência de adultos expostos ao complexo de saponinas de *A. inundata* foi observada 24h após aplicação dos tratamentos, mas isso não afetou a preferência para oviposição de fêmeas de *B. tabaci*.

As saponinas de *A. inundata* são capazes de dispersar conídios de *B. bassiana* e apresentam toxicidade moderada a este fungo entomopatogênico.

Os conídios de *B. bassiana* quando dispersos em saponinas de *A. inundata* provocam mortalidade de ovos e ninfas de *B. tabaci* semelhante à quando os conídios são dispersos em Triton.

As saponinas interferem na ação de *B. bassiana* sobre a mortalidade de adultos de *B. tabaci*, ocasionando uma menor mortalidade desses insetos.

Portanto, as saponinas vegetais são um possível substituto aos surfactantes sintéticos, visto que dispersam conídios semelhante ao Triton e não afetam a ação do fungo entomopatogênico quanto a sua capacidade de causar mortalidade de ovos e ninfas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-KADER, M.; HOCH, J.; BERGER, J. M.; EVANS, R.; MILLER, J. S.; WISSE, J. H.; MAMBER, S. W.; DALTON, J. M.; KINGSTON, D. G. I. Two Bioactive Saponins from *Albizia subdimidiata* from the Suriname Rainforest. **Journal of natural products**, v. 64, n. 4, p. 536-539, 2001.
- AKBAR, W.; LORD, J. C.; NECHOLS, J. R.; LOUGHIN, T. M. Efficacy of *Beauveria bassiana* for red flour beetle when applied with plant essential oils or in mineral oil and organosilicone carriers. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 3, p. 683-688, 2005.
- ALEMANDRI, V.; VAGHI MEDINA, C. G.; DUMÓN, A. D.; ARGUELLO CARO, E. B.; MATTIO, M. F.; GARCÍA MEDINA, S.; LÓPEZ LAMBERTINI, P. M.; TRUOL, G. Three members of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) cryptic species complex occur sympatrically in Argentine horticultural crops. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 2, p. 405-413, 2015.
- ANDRADE, E. M. J.; TEIXEIRA, J. S.; SILVA, D. K. C.; SANTOS, T. B.; KORN, M. G. A.; BRANDÃO, H. N.; FERRAZ, C. G.; MEIRA, C. S.; SOARES, M. B. P.; GUIMARÃES, E. T.; NETA, L. C. S.; JÚNIOR, A. F. S. Phytochemical analysis, multi-element composition and biological activities of extracts and lupenone from *Albizia inundata* (Mart.) Barneby & JW Grimes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 1825-1837, 2020.
- ARNOSTI, A.; DELALIBERA JÚNIOR, Í.; CONCESCHI, M. R.; D'ALESSANDRO, C. P.; TRAVAGLINI, R. V.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Interactions of adjuvants on adhesion and germination of *Isaria fumosorosea* on adults of *Diaphorina citri*. **Scientia Agricola**, v. 76, p. 487-493, 2019.
- BAGAVAN, A.; RAHUMAN, A. A.; KAMARAJ, C.; GEETHA, K. Larvicidal activity of saponin from *Achyranthes aspera* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology research**, v. 103, n. 1, p. 223-229, 2008.
- BALDIN, E. L. L.; FANELA, T. L. M.; PANNUTI, L. E. R.; KATO, M. J.; TAKEARA, R.; CROTTI, A. E. M. Botanical extracts: alternative control for silverleaf whitefly management in tomato. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 59-65, 2015.
- BARBOSA, L. F.; YUKI, V. A.; MARUBAYASHI, J. M.; MARCHI, B. R.; PERINI, F. L.; PAVAN, M. A.; BARROS, D. R.; GHANIM, M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; KRAUSE-SAKATE, R. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, v. 71, n. 4, p. 501-504, 2014.
- BARILE, E.; BONANOMI, G.; ANTIGNANI, V.; ZOLFAGHARI, B.; SAJJADI, S. E.; SCALA, F.; LANZOTTI, V. Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. **Phytochemistry**, v. 68, n. 5, p. 596-603, 2007.
- BELLO, V. H.; SILVA, F. B.; WATANABE, L. F. M.; VICENTIN, E.; MULLER, C.; BUENO, R. C. O. F.; SANTOS, J. C.; MARCHI, B. R.; NOGUEIRA, A. M.; YUKI,

V. A.; MARUBAYASHI, J. M.; SARTORI, M. M. P.; PAVAN, M. A.; GHANIM, M.; KRAUSE-SAKATE, R. Detection of *Bemisia tabaci* Mediterranean cryptic species on soybean in São Paulo and Paraná States (Brazil) and interaction of cowpea mild mottle virus with whiteflies. **Plant Pathology**, v. 70, n. 6, p. 1508-1520, 2021.

BELLO, V. H.; WATANABE, L. F. M.; FUSCO, L. M.; MARCHI, B. R.; SILVA, F. B.; GORAYEB, E. S.; MOURA, M. F.; SOUZA, I. M.; MULLER, C.; SALAS, F. J. S.; YUKI, V. A.; BUENO, R. C. O. F.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SEKATE, R. Outbreaks of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in vegetable crops in São Paulo and Paraná States, Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v. 110, n. 4, p. 487-496, 2020.

BHADANI, R. V.; GAJERA, H. P.; HIRPARA, D. G.; KACHHADIYA, H. J.; DAVE, R. A. Metabolomics of extracellular compounds and parasitic enzymes of *Beauveria bassiana* associated with biological control of whiteflies (*Bemisia tabaci*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 176, p. 104877, 2021.

BOAVENTURA, H. A.; QUINTELA, E. D.; SANTOS, E. N.; SILVA, J. F. A.; HUMBER, R. A. Susceptibility of all nymphal stages of *Bemisia tabaci* Biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) to three Brazilian isolates of *Cordyceps* sp. (Hypocreales: Cordycipitaceae) in a greenhouse under variable temperature and moisture conditions. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 1, p. 100-113, 2021.

BOUCHELTA, A.; BOUGHADAD, A.; BLENZAR, A. Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**. v. 9, n. 4, p. 259 -269, 2005.

BUCKNER, J. S.; HAGEN, M. M.; NELSON, D. R. The composition of the cuticular lipids from nymphs and exuviae of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 124, n. 2, p. 201-207, 1999.

BUGTI, G. A.; BIN, W.; NA, C.; FENG, L. H. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* strain 202 against sap-sucking insect pests. **Plant Protection Science**, v. 54, n. 2, p. 111-117, 2018.

CARAPIA RUIZ, V. E.; CASTILLO-GUTIÉRREZ, A. Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v. 29, n. 1, p. 178-193, 2013.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Florestas, 2014. 634 p. v. 5.

CHAIIEB, I.; HAMOUDA, A. B.; TRABELSI, M.; HALIMA, M. B.; HAMOUDA, M. H. B. Toxicity investigation of *Cestrum parqui* saponins to *Culex pipiens* larvae. **Pest Technology**, v. 3, n. 1, p. 73-75, 2009.

- CHAPAGAIN, B. P.; WIESMAN, Z.; TSROR, L. In vitro study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 26, n. 2, p. 109-115, 2007.
- COLEMAN, J. J.; OKOLI, I.; TEGOS, G. P.; HOLSON, E. B.; WAGNER, F. F.; HAMBLIN, M. R.; MYLONAKIS, E. Characterization of plant-derived saponin natural products against *Candida albicans*. **ACS chemical biology**, v. 5, n. 3, p. 321-332, 2010.
- COSTA, E. A. D.; ALMEIDA, J. E. M.; LOUREIRO, E. S.; SANO, A. H. Compatibilidade dos Adjuvantes AG 6202 e AgRho Dep-775 no Desenvolvimento in vitro dos Fungos Entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. **STAB**, v. 21, n. 6, p. 6-9, 2003.
- COSTA, F.; YENDO, A. C. A.; FLECK, J. D.; GOSMANN, G.; FETT-NETO, A. G. Accumulation of a bioactive triterpene saponin fraction of *Quillaja brasiliensis* leaves is associated with abiotic and biotic stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 66, p. 56-62, 2013.
- COSTA, T. M.; INOUE-NAGATA, A. K.; VIDAL, A. H.; RIBEIRO, S. G.; NAGATA, T. The recombinant isolate of cucurbit aphid-borne yellows virus from Brazil is a polerovirus transmitted by whiteflies. **Plant Pathology**, v. 69, n. 6, p. 1042-1050, 2020.
- CSERHÁTI, T.; FORGÁCS, E.; OROS, G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. **Environment international**, v. 28, n. 5, p. 337-348, 2002.
- CUI, C.; YANG, Y.; ZHAO, T.; ZOU, K.; PENG, C.; CAI, H.; WAN, X.; HOU, R. Insecticidal activity and insecticidal mechanism of total saponins from *Camellia oleifera*. **Molecules**, v. 24, n. 24, p. 4518, 2019.
- CURKOVIC, T.; CHIFFELLE, Í.; VILLAR, J.; ARAYA, J. E.; SILVA, G. An agricultural detergent as co-adjuvant for entomopathogenic fungi and chlorpyrifos to control *Pseudococcus viburni* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Florida Entomologist**, v. 102, n. 1, p. 101-106, 2019.
- DANNON, H. F.; DANNON, A. E.; DOURO-KPINDOU, O. K.; ZINSOU, A. V.; HOUNDETE, A. T.; TOFFA-MEHINTO, J.; ELEGBEDE, I. A. T. M.; OLOU, B. D.; TAMO, M. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**, v. 3, n. 1, p. 1-21, 2020.
- DJEGHADER, N. E.; AÏSSAOUI, L.; AMIRA, K.; BOUDJELIDA, H. Toxicity evaluation and effects on the development of a plant extract, the Saponin, on the domestic mosquito, *Culex pipiens*. **International Journal of Mosquito Research**, v. 5, n. 1, p. 01-05, 2018.
- DOLMA, S. K.; SHARMA, E.; GULATI, A.; REDDY, S. G. E. Insecticidal activities of tea saponin against diamondback moth, *Plutella xylostella* and aphid, *Aphis craccivora*. **Toxin reviews**, v. 37, n. 1, p. 52-55, 2018.

DUARTE, R. T.; GONÇALVES, K. C.; ESPINOSA, D. J. L.; MOREIRA, L. F.; DE BORTOLI, S. A.; HUMBER, R. A.; POLANCZYK, R. A. Potential of entomopathogenic fungi as biological control agents of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and compatibility with chemical insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 594-601, 2016.

DUNLAP, C. A.; BEHLE, R. W.; JACKSON, M. A. Compatibility of OMRI-certified surfactants with three entomopathogenic fungi. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 4, p. 436-447, 2014.

FANELA, T. L. M.; BALDIN, E. L. L.; FUJIHARA, R. T. New experimental tools for bioassays with whitefly in laboratory. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n.12, p. 1782-1784, 2012.

FARIA, M.; WRAIGHT, S. P. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. **Crop protection**, v. 20, n. 9, p. 767-778, 2001.

FERNANDES, D. S.; OKUMA, D.; PANTOJA-GOMEZ, L. M.; CUENCA, A.; CORRÊA, A. S. *Bemisia tabaci* MEAM1 still remains the dominant species in open field crops in Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e256949, 2022.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA, N. S.; BAPTISTA, G. C.; BERTI F. E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, S. **Entomologia agrícola**, Piracicaba: FEALQ, 920 p. 2002.

GATARAYIHA, M. C.; LAING, M. D.; MILLER, R. M. Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of *Beauveria bassiana* for the control of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, n. 3, p. 217-229, 2010.

GEBREMARIAM, A.; CHEKOL, Y.; ASSEFA, F. Extracellular enzyme activity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their pathogenicity potential as a bio-control agent against whitefly pests, *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). **BMC research notes**, v. 15, n. 117, p. 1-6, 2022.

GERLING, D. Natural enemies of *Bemisia tabaci*, biological characteristics and potential as biological control agents: A review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 17, n. 2, p. 99-110, 1986.

GEYTER, E.; GEELLEN, D.; SMAGGHE, G. First results on the insecticidal action of saponins. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, v. 72, n. 3, p. 645, 2007.

GEYTER, E.; SMAGGHE, G.; RAHBÉ, Y.; GEELLEN, D. Triterpene saponins of *Quillaja saponaria* show strong aphicidal and deterrent activity against the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. **Pest management science**, v. 68, n. 2, p. 164-169, 2012.

- GINDIN, G.; GESCHTOVT, N. U.; RACCAH, B.; BARASH, I. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Phytoparasitica**, v. 28, p. 229-239, 2000.
- GRANT, R. L.; YAO, C.; GABALDON, D.; ACOSTA, D. Evaluation of surfactant cytotoxicity potential by primary cultures of ocular tissues: I. Characterization of rabbit corneal epithelial cells and initial injury and delayed toxicity studies. **Toxicology**, v. 76, n. 2, p. 153-176, 1992.
- GREEN, J. M.; BEESTMAN, G. B. Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. **Crop Protection**, v. 26, n. 3, p. 320-327, 2007.
- HAO, W.; ZHONG, G.; HU, M.; LUO, J.; WENG, Q.; RIZWAN-UL-HAQ, M. Control of citrus postharvest green and blue mold and sour rot by tea saponin combined with imazalil and prochloraz. **Postharvest Biology and Technology**, v. 56, n. 1, p. 39-43, 2010.
- HE, Y.; WANG, Q.; YE, Y.; LIU, Z.; SUN, H. The ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and toxicology of genus *Albizia*: a review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 257, p. 112677, 2020.
- HE, Z.; LIU, Y.; WANG, L.; GUO, Q.; ALI, S.; CHEN, X.; QIU, B. Risk assessment of two insecticides on *Encarsia formosa*, parasitoid of whitefly *Bemisia tabaci*. **Insects**, v. 9, n. 3, p. 116, 2018.
- HILL, B. G. A morphological comparison between two species of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (westw.) and *Bemisia tabaci* (genn.) (Homoptera: Aleyrodidae) which occur on tobacco in the Transvaal. **Phytophylactica**, v. 1, p. 127-146, 1969.
- HOLLOWAY, P. J.; BUTLER ELLIS, M. C.; WEBB, D. A.; WESTERN, N. M.; TUCK, C. R.; HAYES, A. L.; MILLER, P. C. H. Effects of some agricultural tank-mix adjuvants on the deposition efficiency of aqueous sprays on foliage. **Crop Protection**, v. 19, n. 1, p. 27-37, 2000.
- HOROWITZ, A. R.; GHANIM, M.; RODITAKIS, E.; NAUEN, R.; ISHAAYA, I. Insecticide resistance and its management in *Bemisia tabaci* species. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 3, p. 893-910, 2020.
- HOROWITZ, A. R.; ISHAAYA, I. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. **Pest Management Science**, v. 70, n. 10, p. 1568-1572, 2014.
- HUANG, Z.; ALI, S.; REN, S.; WU, J. Effect of *Isaria fumosoroseus* on mortality and fecundity of *Bemisia tabaci* and *Plutella xylostella*. **Insect Science**, v. 17, n. 2, p. 140-148, 2010.
- INAGAKI, Y.; NOUTOSHI, Y.; FUJITA, K.; IMAOKA, A.; ARASE, S.; TOYODA, K.; SHIRAIISHI, T.; ICHINOSE, Y. Infection-inhibition activity of avenacin saponins against the fungal pathogens *Blumeria graminis* f. sp. hordei, *Bipolaris*

*oryzae*, and *Magnaporthe oryzae*. **Journal of general plant pathology**, v. 79, n. 1, p. 69-73, 2013.

JAMES, R. R.; BUCKNER, J. S.; FREEMAN, T. P. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 84, n. 2, p. 67-74, 2003.

JANG, L.; PARK, Y.; LIM, U. T. *Beauveria bassiana* ARP14 a potential entomopathogenic fungus against *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)(Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 26, n. 1, p. 102022, 2023.

JAVED, K.; JAVED, H.; MUKHTAR, T.; QIU, D. Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii* for the management of whitefly and aphid. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 56, n. 3, 2019.

JIN, X.; STRETT, D. A.; DUNLAP, C. A.; LYN, M. E. Application of hydrophilic–lipophilic balance (HLB) number to optimize a compatible non-ionic surfactant for dried aerial conidia of *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, v. 46, n. 2, p. 226-233, 2008.

KANAKALA, S.; GHANIM, M. Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. **PLoS One**, v. 14, n. 3, p. e0213946, 2019.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American statistical association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.

KIM, J.; JE, Y. Relation of aphicidal activity with cuticular degradation by *Beauveria bassiana* SFB-205 supernatant incorporated with polyoxyethylene-(3)-isotridecyl ether. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 506-509, 2010.

KHUHRO, S. N.; JUNEJO, I. A.; HULLIO, M. H.; MAITLO, S. A.; DAAR, J. S.; RAJPUT, S. Evaluation of colored sticky traps for monitoring the population of whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) on brinjal crop. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 2, p. 327-330, 2020.

KOKILA, K.; PRIYADHARSHINI, S. D.; SUJATHA, V. Phytopharmacological properties of *Albizia* species: a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 3, p. 70-73, 2013.

KONTSEDALOV, S.; GOTTLIEB, Y.; ISHAAYA, I.; NAUEN, R.; HOROWITZ, R.; GHANIM, M. Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. **Pest Management Science**, v. 65, n. 1, p. 5-13, 2009.

LACEY, L. A.; KIRK, A. A.; MILLAR, L.; MERCADIER, G.; VIDAL, C. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii*

(Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. **Biocontrol Science and Technology**, v. 9, n. 1, p. 9-18, 1999.

LIMA, A. C. S.; LARA, F. M.; SANTOS, E. J. M. Morfologia da mosca branca, *Bemisia tabaci* biótipo "B" (Hemiptera: Aleyrodidae), encontrada em Jaboticabal, SP, com base em eletron-micrografias de varredura. **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**, v. 27, p. 315-322, 2001.

LIMA, A.; LARA, F. M. Resistência de genótipos de soja à mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 1, p. 71-75, 2004.

LIN, S.; CHEN, Y.; BAI, Y.; CAI, H.; WEI, H.; TIAN, H.; ZHAO, J.; CHEN, Y.; YANG, G.; GU, X.; MURUGAN, K. Effect of tea saponin-treated host plants on activities of antioxidant enzymes in larvae of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Environmental entomology**, v. 47, n. 3, p. 749-754, 2018.

LOEBLEIN, J. S.; ALVES, L. F. A.; NASCIMENTO, C. B.; RODE, P. A.; ALMEIDA, J. E. M. Association of adjuvants and *Beauveria bassiana* fungus to control of Paraguay tea ampul. **Ciência Rural**, v. 52, 2022.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1998. v. 2. 352 p.

LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia** v. 53, n. 1, p. 53-59, 1994.

LUZ, C.; BATAGIN, I. Potential of oil-based formulations of *Beauveria bassiana* to control *Triatoma infestans*. **Mycopathologia**, v. 160, n. 1, p. 51-62, 2005.

MAINA, U. M.; GALADIMA, I. B.; GAMBO, F. M.; ZAKARIA, D. A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. **Journal of Entomology and Zoology Studies**. v. 6, n. 1, p. 27-32, 2018.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Sistema de Agrotóxicos Fitossanitário (AGROFIT). Disponível em: [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 20 abr. 2022.

MARCHIORI, J. N. C.; ALVES, F. S. Nota sobre a ocorrência natural de *Albizia inundata* (Mart.) Barneby & Grimes no Rio Grande do Sul. **Balduinia**, n. 33, p. 21-25, 2012.

MARQUES, M. A.; QUINTELA, E. D.; MASCARIN, G. M.; FERNANDES, P. M.; ARTHURS, S. P. Management of *Bemisia tabaci* biotype B with botanical and mineral oils. **Crop Protection**, v. 66, p. 127-132, 2014.

MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 01-26, 2016.

MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N.; QUINTELA, E. D.; ARTHURS, S. P.; DELALIBERA JÚNIOR, Í. Toxicity of non-ionic surfactants and interactions with fungal entomopathogens toward *Bemisia tabaci* biotype B. **BioControl**, v. 59, n. 1, p. 111-123, 2014.

MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N.; QUINTELA, E. D.; DELALIBERA JR, I. The virulence of entomopathogenic fungi against *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) and their conidial production using solid substrate fermentation. **Biological control**, v. 66, n. 3, p. 209-218, 2013.

MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA JÚNIOR, I.; FERNANDES, É. K. K.; LUZ, C.; FARIA, M. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of invertebrate pathology**, v. 165, p. 46-53, 2019.

MELO, M. R.; ZOTARELLI, M. F.; SANTOS, L. D.; SILVEIRA, E. Selection of surfactants for enhancing the wettability of powder formulations of *Beauveria bassiana* (bals.-criv.) vuill.(1912)(ascomycota: Cordycipitaceae). **Biological Control**, v. 151, p. 104391, 2020.

MIRHAGHPARAST, S. K.; ZIBAEI, A.; HAJIZADEH, J.; RAMZI, S. Toxicity and physiological effects of the tea seed saponin on *Helicoverpa armigera*. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 25, p. 101597, 2020.

MISHRA, S.; KUMAR, P.; MALIK, A. Evaluation of *Beauveria bassiana* spore compatibility with surfactants. **International Journal of Medical and Health Sciences**, v. 7, n. 1, p. 8-12, 2013.

MKIGA, A. M.; MOHAMED, S. A.; PLESSIS, H.; KHAMIS, F. M.; AKUTSE, K. S.; EKESI, S. *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*: pathogenicity, horizontal transmission, and their effects on reproductive potential of *Thaumatococcus leucocotreta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 2, p. 660-668, 2020.

MONDAL, S.; BAKSI, S.; KORIS, A.; VATAI, G. Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. **Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering**, v. 18, n. 2, p. 85-99, 2016.

MUSA, P. D.; REN, S. Development and reproduction of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on three bean species. **Insect Science**, v. 12, n. 1, p. 25-30, 2005.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual review of phytopathology**, v. 49, n. 2, p. 219-248, 2011.

NEAL JR, J. W.; LEONHARDT, B. A.; BROWN, J. K.; BENTSZ, J.; DEVILBISS, E. D. Cuticular lipids of greenhouse whitefly and sweetpotato whitefly type A and B (Homoptera: Aleyrodidae) pupal exuviae on the same hosts. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, n. 5, p. 609-618, 1994.

NEGASI, A.; PARKER, B. L.; BROWNBIDGE, M. Screening and bioassay of entomopathogenic fungi for the control of silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolli*. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 18, n. 1, p. 37-44, 1998.

NGO, M. T.; HAN, J. W.; YOON, S.; BAE, S.; KIM, S.; KIM, H.; CHOI, G. J. Discovery of new triterpenoid saponins isolated from *Maesa japonica* with antifungal activity against rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 27, p. 7706-7715, 2019.

OLESZEK, W.; BIALY, Z. Chromatographic determination of plant saponins — an update (2002–2005). **Journal of chromatography A**, v. 1112, n. 1-2, p. 78-91, 2006.

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. O. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 357-374, 2013.

OSBOURN, A. Saponins and plant defence — a soap story. **Trends in plant science**, v. 1, n. 1, p. 4-9, 1996.

PALUMBO, J. C.; HOROWITZ, A. R.; PRABHAKER, N. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. **Crop protection**, v. 20, n. 9, p. 739-765, 2001.

PANAHI, O.; LONI, A. Bioassay evaluation of the entomopathogenic fungus, *Lecanicillium longisporum* (Petch) Zare & Gams against egg and nymphs of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood in laboratory conditions. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, v. 46, n. 7, p. 849-861, 2013.

PARADZA, V. M.; KHAMIS, F. M.; YUSUF, A. A.; SUBRAMANIAN, S.; AKUTSE, K. S. Virulence and horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* by the adults of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) and the efficacy of oil formulations against its nymphs. **Heliyon**, v. 7, n. 11, p. e08277, 2021.

PARRA, J. R. P.; COELHO JÚNIOR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, p. 5, 2019.

PARRA, J. R. P. Controle biológico na agricultura brasileira. **Entomological Communications**, v. 1, p. ec01002, 2019.

PATEL, S.; NELSON, D. R.; GIBBS, A. G. Chemical and physical analyses of wax ester properties. **Journal of Insect Science**, v. 1, n. 1, 2001.

PEDRINI, N.; ORTIZ-URQUIZA, A.; HUARTE-BONNET, C.; ZHANG, S.; KEYHANI, N. O. Targeting of insect epicuticular lipids by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 24, 2013.

PODOLAK, I.; GALANTY, A.; SOBOLEWSKA, D. Saponins as cytotoxic agents: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 3, p. 425-474, 2010.

PORRAS, M.; LÓPEZ-ÁVILA, A. Effect of extracts from *Sapindus saponaria* on the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 35, n. 1, p. 7-11, 2009.

PRABHAKER, N.; TOSCANO, N. C.; COUDRIET, D. L. Susceptibility of the immature and adult stages of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, n. 4, p. 953-958, 1989.

PRADHAN, A.; BHATTACHARYYA, A. Shampoos then and now: synthetic versus natural. **Journal of Surface Science and Technology**, v. 30, p. 59-76, 2014.

PRADHAN, A.; BHATTACHARYYA, A. Quest for an eco-friendly alternative surfactant: Surface and foam characteristics of natural surfactants. **Journal of Cleaner Production**, v. 150, p. 127-134, 2017.

QUESADA-MORAGA, E.; MARANHAO, E. A. A.; VALVERDE-GARCÍA, P.; SANTIAGO-ÁLVAREZ, C. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. **Biological control**, v. 36, n. 3, p. 274-287, 2006.

QUINTELA, E. D.; ABREU, A. G.; LIMA, J. F. S.; MASCARIN, G. M.; SANTOS, J. B.; BROWN, J. Reproduction of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) B biotype in maize fields (*Zea mays* L.) in Brazil. **Pest management science**, v. 72, n. 11, p. 2181-2187, 2016.

RAGUPATHI, G.; GARDNER, J. R.; LIVINGSTON, P. O.; GIN, D. Y. Natural and synthetic saponin adjuvant QS-21 for vaccines against cancer. **Expert review of vaccines**, v. 10, n. 4, p. 463-470, 2011.

RAI, S.; ACHARYA-SIWAKOTI, E.; KAFLE, A.; DAVKOTA, H. P.; BHATTARAI, A. Plant-derived saponins: A review of their surfactant properties and applications. **Sci**, v. 3, n. 4, p. 44, 2021.

RIZWAN, M.; ATTA, B.; SABIR, A. M.; YAQUB, M.; QADIR, A. Evaluation of the entomopathogenic fungi as a non-traditional control of the rice leaf roller, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) (Lepidoptera: Pyralidae) under controlled conditions. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-4, 2019.

RODRIGUES, C. S.; NAKASU, E. Y. T.; ORTIZ, G. V.; PEREIRA, J. L.; LUCENA-LEANDRO, V. S.; RÉGO-MACHADO, C. M.; SOUZA, T. A.; MARTINS, T. P.; NAGATA, A. K. I. Evidence of spread of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) mediated by internal transportation of ornamental plants in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 5, p. 850-857, 2021.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M. R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e Desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.279-302.

ROY, D.; KOMMALAPATI, R. R.; MANDAVA, S. S.; VALSARAJ, K. T.; CONSTANT, W. D. Soil washing potential of a natural surfactant. **Environmental science & technology**, v. 31, n. 3, p. 670-675, 1997.

SANIEWSKA, A.; JARECKA, A.; BIALY, Z.; JURZYSTA, M. Antifungal activity of saponins originated from *Medicago hybrida* against some ornamental plant pathogens. **Acta Agrobotanica**, v. 59, n. 2, 2006.

SANTANA, A. S.; BALDIN, E. L. L.; LIMA, A. P. S.; SANTOS, T. L. B.; SANTOS, M. C.; VIEIRA, T. M.; CROTTI, A. E. M.; TAKEARA, R. New challenges demand new solutions: Selected essential oils as an alternative to control *Bemisia tabaci* MED in Brazil. **Crop Protection**, v. 155, p. 105909, 2022.

SANTOS, A. J.; HILDEBRAND, E.; PACHECO, C. H. P.; PIRES, P. T. L.; ROCHADELLI, R. Produtos não madeireiros: conceituação, classificação, valoração e mercados. **Revista Floresta**, v. 33, n. 2, p. 215-224, 2003.

SCHMITT, C.; GRASSL, B.; LESPE, G.; DESBRIÈRES, J.; PELLERIN, V.; REYNAUD, S.; GIGAULT, J.; HACKLEY, V. A. Saponins: A renewable and biodegradable surfactant from its microwave-assisted extraction to the synthesis of monodisperse lattices. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 3, p. 856-862, 2014.

SILVA, J. M. C.; BARBOSA, L. C. F.; LEAL, I. R.; TABARELLI, M. The Caatinga: Understanding the Challenges. In: SILVA, J. M. C.; LEAL, I. R. & TABARELLI, M. eds. **Caatinga: The Largest Tropical Dry Forest Region in South America**. Cham, Springer, 2017. p. 3-22.

SINGH, B.; KAUR, A. Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins: A review. **Lwt**, v. 87, p. 93-101, 2018.

SHAH, P. A.; PELL, J. K. Entomopathogenic fungi as biological control agents. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 61, n. 5, p. 413-423, 2003.

SHARMA, K.; KAUR, R.; KUMAR, S.; SAINI, R. K.; SHARMA, S.; PAWDE, S. V.; KUMAR, V. Saponins: a concise review on food related aspects, applications and health implications. **Food Chemistry Advances**, p. 100191, 2023.

SOARES, F. B.; MONTEIRO, A. C.; BARBOSA, J. C.; MOCHI, D. A. Influence of the soil microbial populations on population density of *Beauveria bassiana* under the effect of insecticides. **Científica**, v. 45, n. 1, p. 73-84, 2017.

- SOARES, M. C. E.; BALDIN, E. L. L.; RIBEIRO, L. P.; SANTOS, M. C.; BATISTA, Y.; VENDRAMIM, J. D. Lethal and Sublethal Effects of *Annona* spp. Derivatives on *Bemisia tabaci* MEAM 1 (Hemiptera: Aleyrodidae) in Tomato. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 6, p. 966-975, 2021.
- SOHRABI, F.; SHISHEHBOR, P.; SABER, M.; MOSADDEGH, M. S. Lethal and sublethal effects of buprofezin and imidacloprid on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Crop Protection**, v. 30, n. 9, p. 1190-1195, 2011.
- SONG, X.; HU, S. Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs. **Vaccine**, v. 27, n. 36, p. 4883-4890, 2009.
- SPARG, S. G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 219-243, 2004.
- SRINIVASAN, R.; HOY, M. A.; SINGH, R.; ROGERS, M. E. Laboratory and field evaluations of Silwet L-77 and kinetic alone and in combination with imidacloprid and abamectin for the management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 91, n. 1, p. 87-100, 2008.
- ST. LEGER, R. J.; WANG, J. B. *Metarhizium*: jack of all trades, master of many. **Open Biology**, v. 10, n. 12, p. 200307, 2020.
- STUARDO, M.; SAN MARTÍN, R. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. **Industrial crops and products**, v. 27, n. 3, p. 296-302, 2008.
- SUN, H.; XIE, Y.; YE, Y. Advances in saponin-based adjuvants. **Vaccine**, v. 27, n. 12, p. 1787-1796, 2009.
- TABARELLI, M.; LEAL, I. R.; SCARANO, F. R.; SILVA, J. M. C. Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. **Ciência e Cultura**, v. 70, n. 4, p. 25-29, 2018.
- THAKUR, K.; JOSHI, N.; SHARMA, S. Bioefficacy of entomopathogenic mycoformulations and effect of adjuvants against nymphs of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus). **Journal of Applied and Natural Science**, v. 13, n. 2, p. 530-536, 2021.
- TIAN, X. LI, Y.; HAO, N.; SU, X.; DU, J.; HU, J.; TIAN, X. The antifeedant, insecticidal and insect growth inhibitory activities of triterpenoid saponins from *Clematis aethusifolia* Turcz against *Plutella xylostella* (L.). **Pest Management Science**, v. 77, n. 1, p. 455-463, 2021.
- TIPPING, C.; BIKOBA, V.; CHANDER, G. J.; MITCHAM, E. J. Efficacy of Silwet L-77 against several arthropod pests of table grape. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 1, p. 246-250, 2003.

TMÁKOVÁ, L.; SEKRETÁR, S.; SCHMIDT, Š. Plant-derived surfactants as an alternative to synthetic surfactants: surface and antioxidant activities. **Chemical Papers**, v. 70, n. 2, p. 188-196, 2016.

URBANEJA, A.; SÁNCHEZ, E.; STANSLY, P. A. Life history of *Eretmocerus mundus*, a parasitoid of *Bemisia tabaci*, on tomato and sweet pepper. **BioControl**, v. 52, n. 1, p. 25-39, 2007.

VINCKEN, J. P.; HENG, L.; GROOT, A.; GRUPPEN, H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. **Phytochemistry**, v. 68, n. 3, p. 275-297, 2007.

WANG, X.; XU, J.; SUN, T.; ALI, S. Synthesis of *Cordyceps fumosorosea*-biochar nanoparticles and their effects on growth and survival of *Bemisia tabaci* (Gennadius). **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 630220, 2021.

WENZEL, I. M. BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; COSTA, E. A. D.; CINTRA, E. R. R.; LIMA, A. M. Efeito de adjuvantes sobre *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. suplementar 3, p. 127-129, 2003.

WINK, M. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. **Natural Product Communications**, v. 3, n. 8, p. 1934578X0800300801, 2008.

WRAIGHT, S. P.; CARRUTHERS, R. I.; JARONSKI, S. T.; BRADLEY, C. A.; GARZA, C. J.; GALAINI-WRAIGHT, S. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Biological control**, v. 17, n. 3, p. 203-217, 2000.

YANG, X.; ZHANG, H. Synergistic interaction of tea saponin with mancozeb against *Pestalotiopsis theae*. **Crop Protection**, v. 40, p. 126-131, 2012.

YANG, Y.; LESER, M. E.; SHER, A. A.; MCCLEMENTS, D. J. Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale®). **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 2, p. 589-596, 2013.

ZAFAR, J.; FREED, S.; KHAN, B. A.; FAROOQ, M. Effectiveness of *Beauveria bassiana* against cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Aleyrodidae: Homoptera) on different host plants. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 48, p. 91-99, 2016.

ZAYNAB, M.; SHARIF, Y.; ABBAS, S.; AFZAL, M. Z.; QASIM, M.; KHALOFAH, A.; ANSARI, M. J.; KHAN, K. A.; TAO, L.; LI, S. Saponin toxicity as key player in plant defense against pathogens. **Toxicon**, v. 193, p. 21-27, 2021.

ZHANG, H.; SAMADI, A. K.; RAO, K. V.; COHEN, M. S.; TIMMERMANN, B. N. Cytotoxic oleanane-type saponins from *Albizia inundata*. **Journal of natural products**, v. 74, n. 3, p. 477-482, 2011.

ZHU, Z.; WEN, Y.; YI, J.; CO, Y.; LIU, F.; MCCLEMENTS, D. J. Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: Tea saponin, Quillaja saponin, and Tween 80. **Journal of colloid and interface science**, v. 536, p. 80-87, 2019.