

ÉLICA SANTOS RIOS

**EFEITO DE XENOBIÓTICOS SOBRE INSETOS E A MICROBIOTA DO SOLO
ASSOCIADOS À PALMA FORRAGEIRA**

GARANHUNS, PERNAMBUCO - BRASIL

FEVEREIRO – 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO AGRÍCOLA

EFEITO DE XENOBIÓTICOS SOBRE INSETOS E A MICROBIOTA DO SOLO
ASSOCIADOS À PALMA FORRAGEIRA

ÉLICA SANTOS RIOS

SOB ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR
CARLOS ROMERO FERREIRA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Produção Agrícola, para obtenção do título de *Mestre*.

GARANHUNS
PERNAMBUCO - BRASIL
FEVEREIRO – 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO AGRÍCOLA

EFEITO DE XENOBIÓTICOS SOBRE INSETOS E A MICROBIOTA DO SOLO
ASSOCIADOS À PALMA FORRAGEIRA

ÉLICA SANTOS RIOS

GARANHUNS
PERNAMBUCO - BRASIL
FEVEREIRO – 2013

Ficha Catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

R586e Rios, Élica Santos
Efeito de xenobióticos sobre insetos e a microbiota do solo associados à palma forrageira /Élica Santos Rios.
_Garanhuns, 2013.

48f.

Orientador: Carlos Romero Ferreira de Oliveira
Dissertação (Curso de Mestrado Produção Agrícola)
Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns, 2013.
Inclui bibliografia

1. Palma forrageira
 2. *Dactylopius opuntiae*
 3. Insetos predadores
 4. Solo - Microbiologia
 5. Xenobióticos
- I. Oliveira, Carlos Romero Ferreira de
 - II. Título

“O Senhor te guiará continuamente, fartará a tua alma até em lugares áridos e fortificará teus ossos; serás como um jardim regado e como um manancial cujas águas jamais faltam”.

Isaías 58:11

Dedicatória

*Aos meus pais **Dilma Lima Santos Rios e Ely de Oliveira Rios!***

Pelo amor incondicional, cuidado diário, por me ensinar a viver de forma correta e justa, e sempre buscando com esforço e dedicação o melhor. Agradeço a Deus por ter o grande privilégio de tê-los como pais. Estou longe, mas sei que posso contar com as orações diárias, com o amor incondicional. Obrigada pela minha formação pessoal e profissional.

*As minhas irmãs **Élcana Santos Rios e Eritana Santos Rios** pelo amor e compreensão e aos meus sobrinhos **Rian Levi, Sofia e Nathan** por tornarem minha vida mais feliz!*

*A **Toni Carvalho** pela compreensão, carinho, apoio e companheirismo!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter permitido que mais um sonho se realizasse, pelas bênçãos derramadas diariamente, pelo amor incondicional e presença constante, proporcionando: força, vitória, paz, saúde e alegria. A Ele toda honra e toda glória.

Aos meus pais pelo amor incondicional, apoio e compreensão.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Produção Agrícola, pelo apoio.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado do Pernambuco (FACEPE), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos produtores rurais Srs. Eduardo e José Maria Ferreira pela concessão das áreas experimentais.

Aos meus familiares pelo carinho, compreensão e apoio, em especial meus tios Marcos e Josiara, pelo acolhimento no início da vida acadêmica e a minha avó Raquel!

Ao professor César Badji pela dedicação, apoio e disponibilidade.

Ao professor Carlos Romero pela disponibilidade, apoio e confiança.

A professora Júlia Kuklinsky pela compreensão e disponibilidade, agora sei por que és tão querida. Ao professor Antônio Ricardo pela orientação nas análises estatísticas.

A José Gomes, Mardônio Pereira, Alexandre da Silva e André Maia, pela ajuda nas coletas de dados, dedicação e apoio, sem vocês seria difícil concluir este trabalho.

A Adjailton, Andreza Raquel e Everton pelo acolhimento, apoio e disponibilidade na parte microbiológica.

Aos funcionários da UAG João Sales, Evanildo e Sr. Ivanildo, pela colaboração e a Cataliny pelas grandes contribuições.

Aos professores do mestrado em produção Agrícola pelos valiosos ensinamentos repassados e aos colegas pela colaboração.

A Luiz Rodrigues, Orlando Oliveira e Juliana Andrade, pela amizade.

A banca pelas valiosas contribuições.

BIOGRAFIA

ÉLICA SANTOS RIOS (RIOS, E.S.) nasceu em Mairi-BA. Filha de Dilma Lima Santos Rios e Ely de Oliveira Rios.

Em 2007 ingressou no Curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Estadual da Bahia (UNEB), Campus III (Juazeiro), graduando-se em outubro de 2011.

Em agosto de 2011 ingressou no Programa de Pós- Graduação em Produção Agrícola sob a orientação do professor Doutor Carlos Romero Ferreira de Oliveira.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
2.1 – AVALIAÇÃO EM CAMPO	22
2.2 – ANÁLISE RESPIROMÉTRICA	24
2.3 – ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO	25
2.4 – VARIABILIDADE GENÉTICA BACTERIANA POR BOX – PCR	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4. CONCLUSÕES	42
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Análise química do solo com plantio de palma cultivar gigante. Caetés – PE, 2012.....24
- Tabela 2.** Eficiência de controle (%) de *Dactylopius opuntiae* após a aplicação de xenobióticos na cultura da palma forrageira Caetés – PE, 2012..... 30
- Tabela 3.** Número médio e eficiência de controle (% C) de colônias de *Dactylopius opuntiae* em diferentes períodos após a aplicação dos xenobióticos na cultura da palma forrageira. Caetés – PE, 2012 31
- Tabela 4.** Quantidade de CO₂ (C-CO₂) acumulada, em função da aplicação de xenobióticos e dos períodos de incubação. Caetés – PE, 201235

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Flutuação populacional da cochonilha do carmim na palma cultivar gigante: A) Antes da aplicação dos xenobióticos; B) Após a aplicação dos xenobióticos. Caetés – PE, 2012.....29
- Figura 2.** Flutuação populacional de inimigos naturais da cochonilha do carmim na palma cultivar gigante tratada por diferentes xenobióticos. Caetés – PE, 2012.....32
- Figura 3.** Distribuição de inimigos naturais na palma cultivar gigante, infestada pela cochonilha do carmim. Caetés – PE, 201234
- Figura 4.** Quantificação da população de bactérias do solo tratado com xenobióticos. Caetés – PE, 2012.....37
- Figura 5.** Crescimento bacteriano do solo tratado com xenobióticos, após 24, 48 e 72 horas de incubação. Caetés – PE, 2012.....38
- Figura 6.** Frequência de coloração das bactérias, provenientes de solos tratados com xenobióticos. Caetés – PE, 201239
- Figura 7.** Amplificação, com o marcador BOX A1R, de alguns isolados (15) oriundos de solo com resíduos de xenobióticos. Legenda: M (1kb) – marcador; (1, 2, 3, 6 e 9) controle; (10 a 18) Detergente + água sanitária; (19) Óleo de nim; B – amostra sem DNA.....40
- Figura 8.** Dendrograma de similaridade mostrando o agrupamento de bactérias de coloração branca nos solos tratados com xenobióticos: (1) controle; (2) Detergente + água sanitária; (3) Óleo de nim; (4) Metomil; (5) Tiametoxam+Lambda-Cialotrina, associadas à cultura da palma, com base nas sequências obtidas pelo *primer* BOX A1R, através do coeficiente de Jaccard e pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Average).....41

RESUMO

A palma é reconhecida como um dos principais recursos forrageiros para a produção animal no semiárido. Entretanto, nos últimos anos, grande parte dos palmais do Nordeste passaram a ser comprometidos pela cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell), sendo necessárias medidas de controle que sejam eficientes e que não afetem a atividade da microbiota presente no solo. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos xenobióticos aplicados na cultura da palma infestada por *D. opuntiae* sobre os inimigos naturais encontrados na cultura e na microbiota do solo. A pesquisa foi conduzida numa área com palma cv. gigante (*Opuntia ficus-indica*) infestada pela cochonilha do carmim na região de Caetés - PE. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 5 tratamentos: controle (água); detergente + água sanitária; óleo de nim; metomil e tiametoxam lambda-cialotrina, e 3 repetições. Antes da aplicação dos xenobióticos foram realizadas 8 coletas de dados, para observar o crescimento da população da cochonilha do carmim e distribuição dos inimigos naturais. Após a aplicação dos produtos, foram realizadas 3 coletas para quantificar a eficiência dos xenobióticos e seu efeito sobre os inimigos naturais e a microbiota do solo, através da respirometria microbiana, quantificação bacteriana e variabilidade genética de bactérias. Para isso, foram coletados solos (0-20cm), sendo a respirometria avaliada monitorando-se a liberação de CO₂ pelos micro-organismos, por um período de 30 dias. Na microbiologia, foi avaliada a densidade populacional das bactérias, após 24, 48 e 72h de incubação, e a variabilidade morfológica, através da coloração. Posteriormente, avaliou-se a variabilidade genética, através de técnicas moleculares, utilizando-se BOX-PCR. Houve aumento do número de colônias da cochonilha do carmim mesmo após a aplicação dos xenobióticos, os quais também não afetaram de maneira significativa os inimigos naturais (IN) presentes na cultura, já que estes insetos ocorreram, mesmo que em baixas densidades, independente da aplicação dos produtos. As espécies predadoras da cochonilha do carmim observadas foram *Zagreus bimaculosus*, *Cybocephalus* sp. e larvas de *Salpingogaster cochenillivorus*, sendo *Z. bimaculosus*, considerado a mais frequente. Quanto à respirometria, verifica-se, em termos relativos, que a quantidade de CO₂ liberado nas amostras de

solo foi maior nas parcelas com a aplicação do inseticida tiametoxam+lambdacialotrina, em relação ao controle, não diferindo dos demais tratamentos. Os solos tratados com apenas água (controle) e detergente + água sanitária apresentaram as maiores populações ($0,96$ e $0,94 \times 10^2$ UFC.g⁻¹, respectivamente). Observou-se que solos com aplicação de água (controle) e detergente + água sanitária, apresentaram bactérias com crescimento mais lento, e nos demais tratamentos, ocorreram crescimento mais acelerado com 24h, diminuindo a partir de 48h de incubação. Na característica morfológica (coloração), as colônias bacterianas houve predomínio de colônias brancas, demonstrando visualmente baixa variabilidade genética. Entretanto, a aplicação da técnica molecular (BOX-PCR), revelou alta variabilidade genética entre as colônias de coloração brancas analisadas. Demonstrando que diante da importância da palma forrageira para o semiárido é de suma importância estudos mais detalhados sobre os efeitos dos xenobióticos sobre a microbiota e os insetos associados.

ABSTRACT

The palm is recognized as a major forage resources for animal production in the semiarid. However, in recent years, most of palmais North East began to be compromised by the cochineal carmine (*Dactylopius opuntiae* Cockerell), being necessary control measures that are efficient and that do not affect the activity of the microbiota present in the soil. Thus, the present study aimed to evaluate the effect of xenobiotics applied in the culture of palm infested by *D. opuntiae* on natural enemies encountered in culture and soil microbes. The study was conducted in an area with palm cv. gigantic (*Opuntia ficus-indica*) scale-infested cochineal carmine in the region of Caetés – PE. The experimental design was a randomized block with 5 treatments: control (water), detergent + bleach, oil neem, methomyl and thiamethoxam lambda-cyhalothrin, and 3 repetitions. Before application of xenobiotics were conducted eight data collections, to observe the growth of the population of cochineal carmine and distribution of natural enemies. After application of the products, three samples were conducted to quantify the efficiency of xenobiotics and their effect on natural enemies and soil microbes by respirometry microbial, bacterial count and genetic variability of bacteria. For this, were collected soils (0-20cm), the respirometry assessed by monitoring the release of CO₂ by the microorganisms for a period of 30 days. In microbiology, was evaluated population density of the bacteria after 24, 48 and 72h of incubation, morphological variability and by staining. Subsequently, we assessed the genetic variability, by molecular techniques, using BOX-PCR. There was increase in the number of colonies of cochineal carmine even after application of xenobiotics, which are not significantly affected natural enemies (IN) present in the culture, as these insects occurred even at low densities, independent of the application of the products. The predatory species of cochineal carmine were observed *Zagreus bimaculosus*, *Cybocephalus* sp. and larvae *Salpingogaster cochenillivorus*, and *Z. bimaculosus*, considered the most frequent. As to respirometry, there is, in relative terms, the amount of CO₂ released from the soil samples was higher in the plots with the application of the insecticide thiamethoxam + lambda-cyhalothrin, relative to the control, not differing from other treatments. Soils treated with water alone (control) and detergent + bleach

showed the largest populations (0.96 and 0.94×10^2 UFC.g⁻¹, respectively). It was observed that soils with water application (control) and detergent + bleach, showed bacteria with slower growth, and the other treatments, with accelerated growth occurred 24h, decreasing from 48 h of incubation. In morphological characteristic (coloration) bacterial colonies predominated white colonies, demonstrating visually low genetic variability. However, the application of molecular techniques (BOX-PCR), revealed high genetic variability between colonies of white coloration analyzed. Demonstrating that given the importance of cactus for semiarid region is of great importance more detailed studies on the effects of xenobiotics on the microbiota and associated insects.

1. INTRODUÇÃO

A palma forrageira é uma cactácea originada do México que foi introduzida no Brasil no final do século XIX para hospedar a cochonilha do carmim (*Dactylopius coccus* Costa) e produzir um corante natural, resultou em uma atividade sem sucesso (Hoffmann, 1995; Santos et al., 2006). A partir do insucesso na criação da cochonilha do Carmim, a palma passou a ser cultivada com fins ornamentais, posteriormente, sendo disseminada como forrageira, por ordem do governo, após a seca de 1932, quando passou a ser reconhecida como um dos principais recursos forrageiros para a produção animal no semiárido (Duque, 2004).

O interesse na palma forrageira, especialmente, *Opuntia ficus-indica* Mill se deve ao alto grau de resistência à seca e às elevadas temperaturas, aliado a sua adaptabilidade a solos de baixa fertilidade e alta eficiência no uso da água, contribuindo para aumentar a viabilidade econômica dos lotes de médios e pequenos produtores de baixa renda da região (Barbera, 1995; Santos et al., 2006).

Além de sobreviver a prolongados períodos de estiagem e apresentar elevado potencial para produzir grandes quantidades de forragem com elevada digestibilidade, altos níveis de carboidratos solúveis e teores de cinza na matéria seca, a palma forrageira é um alimento succulento que pode oferecer alimento verde e atender partes das exigências de água dos ruminantes (Ben et al., 2002; Wanderley et al., 2002; Costa et al., 2009; Misra et al., 2006, Santos et al., 2001).

Atualmente a palma forrageira tem se tornado um dos principais recursos forrageiros para a região semiárida do Brasil. Estima-se que existem 500 mil ha no Nordeste, sendo os Estados de Pernambuco e Alagoas os principais produtores (Lira et al., 2005). No entanto, nos últimos anos grande parte dos palmais do Nordeste passou a ser comprometida pelo ataque da cochonilha (*D. opuntiae* Cockerell), principalmente nos Estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará, onde o inseto tem se tornado a principal praga desta cultura (Santos et al., 2006).

A cochonilha do carmim (*D. opuntiae*) é um inseto sugador de origem mexicana, cosmopolita, pertencente à Ordem Hemiptera: Dactylopiidae. Estes insetos produzem um corante natural vermelho a partir da síntese do ácido carmínico. Em campo é de fácil reconhecimento: no cladódio aparecem pequenos ciclos recobertos por uma cera

branca, semelhante a fio de algodão. O ciclo da fêmea de *D. opuntiae* é dependente do sexo do inseto. As fêmeas têm metamorfose incompleta (ninfas I, ninfas II e adultos) e levam 77 dias para concluir o ciclo biológico, enquanto o macho apresenta metamorfose completa, levando 43 dias para completar o período ovo-adulto (Lopes et al., 2009b; Castro, 2011, López et al., 2006 *apud* Castro, 2011).

Durante sua alimentação, os insetos sugam a seiva dos cladódios e inoculam toxinas e vírus que promovem o enfraquecimento das plantas, provocando a queda dos cladódios, o que pode levar a morte das plantas e destruição do palmar, se medidas de controle não forem adotadas (Cavalcanti et al., 2013; Longo & Rapisarda, 1995).

Por se tratar de um inseto adaptado ao clima da região, com condições de alimentação favoráveis, apresenta grande poder de proliferação e disseminação, podendo causar danos severos e irreversíveis (Lopes et al., 2009d). Na África do Sul onde a palma do gênero *Opuntia* é considerada uma planta daninha, *D. opuntiae* foi considerada o agente de controle biológico primário e o principal pela recuperação de quase 90% dos 900.000 ha da cultura (Zimmermann & Moran, 1991). Foi observado que nas condições climáticas daquela região, *D. opuntiae* desenvolve cinco gerações por ano (uma no inverno, uma no outono e três no verão), necessitando de 40 a 90 dias para iniciar o período de reprodução durante o verão (Longo & Rapisarda, 1995).

Este inseto pode infestar grandes áreas, sendo facilmente disseminado pelo vento ou através do transporte de raquetes infestadas, prática comum entre os produtores do semiárido (Lopes et al., 2007). Em plantios adensados *D. opuntiae* pode infestar o palmar pelo próprio deslocamento natural, necessitando apenas de 12 segundos por centímetro percorrido (Lopes et al., 2009a). Nos estados de Pernambuco, Paraíba e Ceará já foram destruídos mais de 100 mil hectares, sendo que na Paraíba 63 municípios estão infestados e apresentam perdas superiores a 90% (Lopes et al., 2007).

O controle da cochonilha do carmim pode ser através da utilização de plantas resistentes, controle mecânico, biológico, cultural e químico (Cavalcanti et al., 2013).

O emprego de plantas resistentes permite a manutenção da praga em níveis inferiores ao de dano econômico, sem causar prejuízos ao ambiente e sem ônus adicionais ao agricultor (Gallo et al., 2002). O controle mecânico pode ser feito quando se observa os primeiros indivíduos no palmar, fazendo a escovação dos cladódios (Mendoza et al., 2004).

Considerando que todos os insetos têm inimigos naturais em pelo menos uma de suas fases de desenvolvimento, o controle biológico pode ser utilizado para manter as populações de insetos pragas abaixo do nível de dano econômico (Mena-Covarrubias, 2010).

Em grandes focos, onde se faz necessário medidas mais intensas, o recomendado é cortar e dar ao gado, incinerar ou ainda aplicar o controle químico, baseado na aplicação de pesticidas (Santos et al., 2006). No entanto, o controle químico pode ocasionar desequilíbrios populacionais dos inimigos naturais, promover resistência do inseto-praga ao produto químico utilizado e contaminação ambiental, além dos danos causados à saúde dos consumidores de produtos (leite e carne) oriundos de animais alimentados com a palma forrageira contaminada com resíduos de pesticidas (Lopes et al., 2007).

O único produto recomendado em Pernambuco para controle da cochonilha do carmim (registro temporário) é o Engeo pleno® (TIAMETOXAM + LAMBDA-CIALOTRINA), um inseticida sistêmico, de contato e ingestão, altamente persistente e perigoso ao meio ambiente e altamente tóxico para organismos aquáticos e abelhas, podendo causar danos a outros insetos benéficos, como os inimigos naturais (AGROFIT, 2013). No entanto, o produto químico mais utilizado pelos produtores rurais do Agreste de Pernambuco para o controle da cochonilha *D. opuntiae* não é recomendado para uso em palma forrageira. Trata-se do Lannate BR® (METOMIL), um inseticida sistêmico e de contato, muito perigoso ao meio ambiente, altamente móvel no solo, que pode contaminar principalmente as águas subterrâneas (AGROFIT, 2013).

Os danos causados pelo uso contínuo de pesticidas podem ser reduzidos pela utilização de alguns produtos extraídos de plantas e minerais que apresentam baixa toxicidade ao homem, conhecidos como alternativos. Produtos como detergente, água sanitária, óleo vegetal e mineral podem apresentar boa eficiência no controle de *D. opuntiae*, além de não afetarem os inimigos naturais que contribuem para aumentar a eficiência do controle da praga (Brito et al., 2008; Silva et al., 2011; Lopes et al., 2009d; Mendoza et al., 2004).

Segundo Silva et al. (2005) os xenobióticos são compostos químicos sintetizados pelo homem, incluindo detergentes, agrotóxicos, compostos orgânicos (que não

participam dos ciclos globais), bem como uma ampla variedade de subprodutos da indústria química, abrangendo, portanto, um grande número de moléculas com diferentes modos de ação e toxicidade. A utilização de xenobióticos pode influenciar a dinâmica dos micro-organismos do solo.

A atividade dos organismos no solo é considerada um atributo positivo para a qualidade do solo, sendo que pequenas alterações podem estar associadas com mudanças na atividade da biota em função de perturbações provocadas pelo manejo (Reis et al., 2008).

Os micro-organismos do solo promovem a decomposição da matéria orgânica (mineralização), ciclagem de nutrientes minerais, crescimento de plantas, solubilização de nutrientes, supressão de patógenos, a produção de fitormônios e a decomposição de compostos xenobióticos (Reis et al., 2009; Tótola & Chaer, 2002 e Bottomley, 2005, *apud* Tironi 2009)

Segundo Fernandes et al. (2012) o uso de moléculas inseticidas e formulações menos agressivas a organismos não-alvos deve ser objetivo de todos aqueles que se utilizam dessa tecnologia para aumentar a produção de alimentos e energia sem, no entanto, comprometer a sustentabilidade dos agroecossistemas. Sendo o estudo dos efeitos de pesticidas em populações não-alvo uma estratégia aceitável para avaliar seus potenciais riscos ambientais (Ferreira et al., 2009).

Segundo Chaer & Tótola (2007) os critérios bioquímicos e microbiológicos, são os indicadores mais responsivos a curto prazo, em razão da maior sensibilidade às perturbações.

Os impactos dos xenobióticos sobre os micro-organismos do solo podem ser avaliados pelo emprego de indicadores microbiológicos visando avaliar a qualidade do solo. Dentre os indicadores microbiológicos de qualidade do solo destacam-se: a taxa respiratória, quantificação microbiana e estudo da diversidade bacteriana, que são parâmetros fundamentais para entender o funcionamento do ecossistema. Segundo Sá et al. (2000) uma alta taxa respiratória indicará maior atividade microbiana e uma decomposição mais rápida do material orgânico do solo, com conseqüente liberação de nutrientes para as plantas. Na natureza, as bactérias encontram-se principalmente em associação com espécies diferentes, que compõem as comunidades bacterianas. Estas

comunidades ocupam todos os nichos terrestres, colonizando ambientes como: solo, água, ar, plantas e animais (Andreote et al., 2009).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a eficiência dos xenobióticos aplicados em palma forrageira sobre insetos e a microbiota do solo associados. Como objetivos específicos: 1) avaliar a eficiência dos xenobióticos no controle da cochonilha do carmim, *D. opuntiae*, na palma forrageira; 2) avaliar a influência dos xenobióticos nos inimigos naturais encontrados na cultura; 3) avaliar o efeito dos xenobióticos na microbiota do solo e 4) avaliar a variabilidade genética de bactérias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – AVALIAÇÃO EM CAMPO

O experimento foi conduzido em propriedade privada no município de Caetés - PE, localizado na mesorregião do Agreste e na microrregião de Garanhuns, numa área de palma cultivar gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill), plantada em 2011, no espaçamento de 0,90 x 0,40 m, e naturalmente infestada pela cochonilha do carmim (*D. opuntiae*).

No mês de setembro de 2012, foram identificadas e marcadas 25 plantas por bloco, com infestação similar, com a cochonilha do carmim no segundo estágio. Foram realizados acompanhamentos semanais para observar o desenvolvimento da praga no campo, por conta do baixo nível de infestação (Nível 1) (Rico et al., 2010).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com cinco tratamentos e três repetições, sendo a unidade experimental composta por 25 plantas. Avaliou-se o efeito dos produtos: Controle (Água); Detergente (3%) + água sanitária (1,5%); Óleo de nim comercial (0,66%); Metomil (Lannate - classificação toxicológica: I (extremamente tóxico)) (0,3%) e Tiametoxam + Lambda-Cialotrina (Engeo Pleno - classificação toxicológica: III (medianamente tóxico)) (0,01%). A aplicação dos produtos foi realizada seguindo os seguintes critérios: a) a do detergente + água sanitária foi realizada segundo a recomendação do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA); b) a do inseticida Tiametoxam + Lambda-Cialotrina foi realizada conforme a recomendação do fabricante (Syngenta) para a cochonilha do carmim da palma forrageira; c) a do óleo de nim comercial foi utilizada o dobro da dosagem recomendada para hortaliças, pela palma ser uma planta perene; d) o metomil (mesmo não tendo registro) foi aplicado por ser o principal produto utilizado pelos produtores da região, por ser mais acessível economicamente (custa seis vezes menos que o único produto com registro temporário para a palma). Antes da aplicação dos xenobióticos foram coletadas 15 amostras de solo, formando ao final uma amostra composta, na profundidade de 0-20 cm, para análise de fertilidade, a qual foi realizada no Laboratório de Solos e Geologia do CENLAG/UAG (Central de Laboratórios de Garanhuns/Unidade Acadêmica de Garanhuns) (Tabela 1).

Os produtos foram pulverizados diretamente sobre os cladódios das plantas até o início do escorrimento, com o auxílio de um pulverizador costal com capacidade de 5L, em 29 de novembro de 2012. As pulverizações foram realizadas de forma que cada tratamento não interferisse sobre o outro, para isto, foram utilizadas parcelas de 20 x 15 m (largura x comprimento), e selecionadas plantas (para quantificação de dados) com aproximadamente 3 m de distância das parcelas adjacentes. Foram efetuadas 11 avaliações, sendo as oito primeiras antes da aplicação dos produtos e, as demais, aos 3, 15 e 21 dias após a aplicação (DAA). As variáveis analisadas foram o número de colônias da cochonilha do carmim e o número de inimigos naturais por planta. Os inimigos naturais foram identificados (de forma visual na área experimental) e a frequência dos mesmos registrada.

Para análise estatística, foi utilizado o software SISVAR, transformando-se o número de colônias em $\sqrt{x + 0,5}$ com o objetivo de normalizar e estabilizar a variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade, sendo realizado um fatorial 3 x 5 (períodos de avaliação x xenobióticos). A eficiência dos inseticidas foi calculada pela fórmula de Brito et al. (2008), através dos dados originais.

$$\text{Percentagem de Eficiência: } \frac{\text{Mortos}}{\text{Mortos} \times \text{Vivos}} \times 100$$

Após três dias à aplicação dos produtos, foram coletados solos, para avaliação da quantificação de CO₂ liberado pelos micro-organismos e para avaliação bacteriana. A coleta de solo foi realizada, ao lado da palma, numa profundidade de 0 - 20 cm coletando-se 3 amostras simples, aleatoriamente, em cada parcela, utilizando-se um cavador, formando ao final, uma amostra composta. Foram colocadas 50 g de solo em tubos tipo “falcon” estéreis, os quais foram acondicionados em caixa de isopor contendo gelo e papéis umedecidos para resfriamento das amostras. Estas amostras foram reservadas para o isolamento bacteriano. Já, para a quantificação do CO₂, separou-se aproximadamente 500 g de solo, que foram acondicionados em sacos plásticos limpos e identificados. Após a coleta do solo, os mesmos foram levados para o Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana da Unidade Acadêmica de Garanhuns

(UFRPE/UAG) e para o Laboratório de Entomologia Aplicada (UFRPE/UAG), respectivamente, para o processamento das amostras.

Tabela 1. Análise química do solo com plantio de palma cultivar gigante. Caetés - PE, 2012.

Análise Química										
pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H + Al	SB	CTC	V1
	<i>mg Kg⁻¹</i>	-----				<i>cmol_c Kg⁻¹</i>	-----			%
5,4	12,4	0,1	0,1	3,4	4,5	0,1	4,1	8,1	12	66,3

Fonte: Laboratório de solos e geologia da UFRPE/UAG

2.2 – ANÁLISE RESPIROMÉTRICA

Para a quantificação da respiração realizada pelos micro-organismos presentes no solo, realizou-se a secagem das amostras por 24h à sombra e, posteriormente, determinou-se a capacidade de campo do solo, utilizando 500 g de solo para 500 mL de água.

Na realização dos ensaios, 100 g de solo seco foram incubados em recipientes de vidro de 600 mL de capacidade, umedecidos com água destilada a 70% da capacidade de campo, e no interior dos mesmos foram colocados recipientes plásticos (40 mL) com 10 mL de NaOH (0,91 μL^{-1}). Os recipientes foram hermeticamente fechados e mantidos em temperatura ambiente ($\pm 26\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 30 dias. Como testemunha, foram utilizados potes sem solo, com copos contendo NaOH para a captura do CO_2 do ambiente.

A medição da produção de CO_2 foi realizada no 3º, 6º, 9º, 13º, 16º, 20º e 30º dias após a incubação do solo. Em cada período de incubação foram retirados os copos plásticos dos frascos e, em Becker, colocados o hidróxido de sódio (NaOH) de cada amostra, 5 mL de BaCl_2 (1 μL^{-1}) e 3 gotas do indicador fenolftaleína a 1%. Posteriormente foi titulado com solução de ácido clorídrico (HCl 0,45 μL^{-1}), sendo registrado o volume gasto do HCl. Após a retirada do NaOH, novas soluções eram repostas para os subsequentes períodos de incubação. Efetuou-se o mesmo procedimento com potes sem adição de solo (branco).

A quantidade de C liberado, em mg.kg^{-1} de C-CO₂ no solo, foi calculada pela fórmula proposta por Stotzky (1965), *apud* Silva et al. (2009):

$$\text{C-CO}_2\text{mg} = (\text{B}-\text{V}) * \text{M} * \text{E}$$

Sendo,

B = volume utilizado em mL de HCl para titular NaOH do branco (testemunha);

V = volume utilizado em mL de HCl para titular NaOH da amostra;

M = Molaridade do ácido utilizado (HCl 0,45 mol/L);

E = peso equivalente do carbono (6);

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (produtos aplicados) e três repetições em duplicata, em arranjo fatorial 5 x 7 (xenobióticos x período de incubação). Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, através do software SISVAR.

2.3 – ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO

O procedimento de isolamento bacteriano, seguiu a metodologia descrita por Araújo et al. (2010), com algumas modificações. De cada amostra de solo, pesou-se 5g, que foram transferidas para frascos Erlenmeyers (125 mL) contendo 50 mL do tampão fosfato salino (Phosphate Buffered Saline – PBS, por L: NaCl 8,0 g.L^{-1} ; KCl 0,20 g.L^{-1} ; Na₂HPO₄ 1,44 g.L^{-1} ; KH₂ PO₄ 0,24 g.L^{-1} ; pH 7,4) e cerca de 5 gramas de pérolas de vidro (0,1cm de diâmetro). Em seguida, estes frascos foram mantidos em mesa agitadora por 30 min a 100 rpm. Após a agitação, foram realizadas diluições seriadas (10^{-4} e 10^{-5}) em tampão PBS e alíquotas de 100 μL foram inoculadas em placas de Petri, contendo o meio de cultura TSA a 10% (Tryptone Soy Agar por L: Tryptona 1,5 g.L^{-1} ; Peptona 0,5 g.L^{-1} ; NaCl 1,5 g.L^{-1} ; Ágar 15 g; pH 7,3) acrescido de fungicida Cercobin 700 (50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Em seguida foram incubadas a 28 °C e avaliadas após 24, 48 e 72h. A densidade populacional foi avaliada por meio da contagem das colônias, e expressa por grama de solo fresco (UFC. g^{-1} de solo). Além disso, o tempo de crescimento bacteriano e a morfologia (coloração) também foram avaliadas.

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (produtos aplicados) e três repetições. Os dados foram submetidos à análise

de variância, sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade, através do software SISVAR.

2.4 – VARIABILIDADE GENÉTICA BACTERIANA POR BOX – PCR

Para avaliação da variabilidade genética, foram selecionadas 22 colônias bacterianas de coloração branca, isoladas do cultivo das placas de isolamento. Com o auxílio de palitos estéreis, cada colônia isolada, foi inoculada em tubo contendo 4 mL de meio TSA líquido a 10% e mantidas em mesa agitadora (100 rpm) por 24 horas.

Após o período de crescimento bacteriano, a cultura foi transferida para microtubos de 2 mL, centrifugados por 5 minutos, a 12000 g, para precipitação das células bacterianas, sendo descartado o sobrenadante. O *pellet* formado, ao final do processo de centrifugação foi ressuspensão em 300 uL de TE (10 mM de Tris-HCl; 1 mM de EDTA; pH 8,0) para análises moleculares, sendo utilizado como fonte de DNA. As amostras foram mantidas a uma temperatura de -20°C.

A avaliação da diversidade genética dos isolados bacterianos foi realizada através da técnica BOX-PCR, utilizando o *primer* BOX 1AR (‘5 – CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3’). As reações de PCR (Reação de cadeia polimerase) foram preparadas para um volume final de 25 µL, contendo em sequência: água ultrapura; 1x do tampão de enzima Taq Buffer; 3,5 mM de MgCl₂; 1 mM de cada dNTP; 0,4 µM do *primer* BOX 1AR; 1x de DMSO (dimetilsulfoxamida) e 0,08U/µL da enzima Taq DNA Polimerase. Após a preparação do mix, os microtubos foram colocados em termociclador programado para realizar uma desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos, seguidos de 35 ciclos para a desnaturação a 94°C por 2 segundos, 92°C por 30 segundos, 50°C por 1 minuto, 65°C por 8 minutos, 65°C por 10 minutos e 4°C por 59 minutos.

Após a amplificação, as reações de PCR foram avaliadas por eletroforese em gel de agarose (1,5%) em tampão 1x TAE (40 mM de Tris-acetato; 1 mM de EDTA), com a aplicação de 10 µL de cada reação e 2 µL do corante *Blue Green Loading Dye* (LGC Bio), posteriormente observado em luz ultravioleta e fotodocumentado.

As bandas geradas pela amplificação foram transformadas em dados binários (presença e ausência de bandas), e em seguida utilizadas para obter um dendrograma de

similaridade calculado através do coeficiente de Jaccard e agrupado utilizando o algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Average*), utilizando o software PAST[®] versão 1.90.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas avaliações realizadas antes e após a aplicação dos produtos (Figura 1) verifica-se que houve um incremento no número médio de colônia da cochonilha do carmim por planta, passando de 3 para aproximadamente 15 colônias após 55 dias da avaliação inicial, o que pode ser justificado (Figura 1A) pela falta de controle, condições climáticas favoráveis, características reprodutivas e formas de disseminação da cochonilha. A reprodução da cochonilha ocorre por anfigonia ou por partenogênese telítoca. Na anfigonia nasce machos e fêmeas, diferente da reprodução por partenogênese telítoca onde nascem apenas fêmeas contribuindo para o aumento da população. Em relação à disseminação, a cochonilha pode ser facilmente disseminada pelo vento, pelo homem, animais, pela locomoção natural das ninfas do estágio I (locomovem-se, em média, 1,0 centímetro em 12 segundos). Além disso, a cochonilha pode ser disseminada pelo transporte e plantio de cladódios infestados (Arruda filho & Arruda, 2002; Lopes et al., 2009a).

Lopes et al. (2009a) ao estudar, através de infestação artificial de 10 colônias/cladódio/planta, a velocidade de infestação e dispersão de *D. opuntiae*, observaram após 60 dias da infestação uma média de 139,2 colônias/cladódio, demonstrando a agressividade que a cochonilha do carmim possui em relação a palma cultivar gigante (*Opuntia ficus-indica*).

Lopes et al. (2009b) ao verificar, em três avaliações, a evolução do número de cochonilha do carmim na palma cultivar gigante, observaram que houve um aumento linear de quase 100% entre a primeira (6,98 colônias) e a última avaliação (13,99 colônias), após 50 dias, resultados semelhantes foram encontrados no presente trabalho.

Da mesma forma, Lopes et al. (2009c), em trabalho realizado, com cladódios de palma cultivar gigante (*Opuntia ficus-indica*), com diferentes níveis iniciais de infestação de colônias de insetos adultos da cochonilha do carmim (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 colônias), em condições de laboratório, verificaram após 7 dias da infestação artificial, crescimento linear do número de colônias, de 21,2 a 77,4.

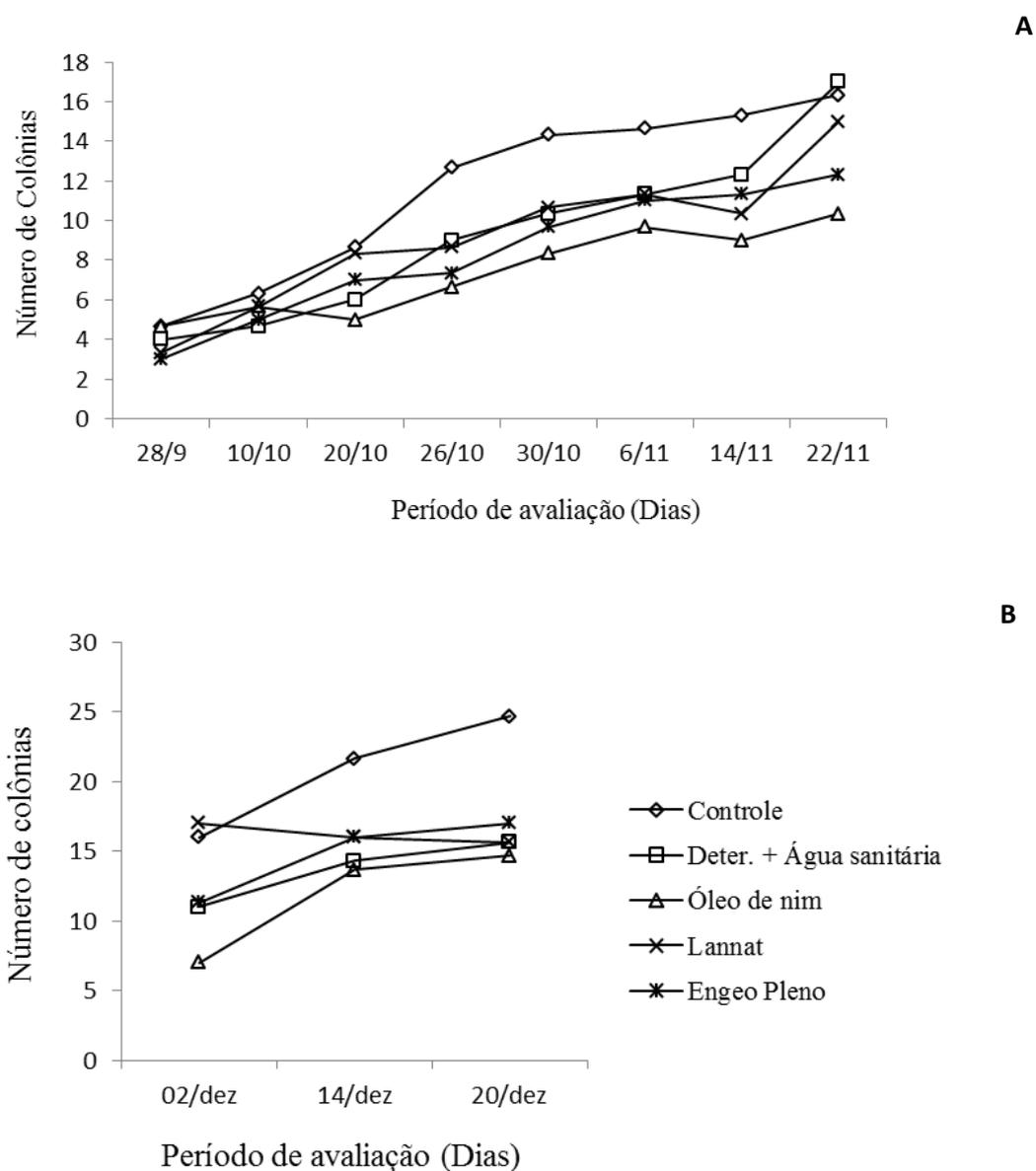


Figura 1. Flutuação populacional da cochonilha do carmim na palma cultivar gigante: A) Antes da aplicação dos xenobióticos; B) Após a aplicação dos xenobióticos. Caetés – PE, 2012.

Observa-se, que para o efeito isolado dos produtos utilizados, houve diferença significativa (Tabela 2), sendo o inseticida metomil superior ao controle (19,88%), não diferindo dos demais tratamentos. O metomil é bastante utilizado pelos produtores na região do presente estudo em associação ao óleo como adjuvante, o que pode reduzir a quantidade de produtos químicos empregados, o custo do tratamento (por ser um produto acessível economicamente) e aumentar a eficiência. No entanto, esta

combinação não foi estudada. Ressalta-se que o metomil não possui registro para emprego na cultura da palma no Brasil, sendo considerado extremamente tóxico (AGROFIT, 2013).

Mendoza et al. (2004), avaliando o efeito do detergente (Roma) e do miscelâneo (Peak Plus), nas concentrações de 0,5 a 6,0%, no controle de ninfas da cochonilha do carmim, no estágio I, II e adultos, verificaram que as ninfas do primeiro estágio foram mais susceptíveis a aplicação do detergente em relação as ninfas do estágio II e adultos, sendo a concentração de 3,0% do detergente o suficiente para diminuir cerca de 80% das ninfas I. Os autores também observaram que 3,0 e 6,0% do Peak Plus podem causar uma mortalidade de 70 e 90% de ninfas II e adultos, respectivamente, em condições controladas, e que a aplicação repetida dos produtos aumenta a percentagem de mortalidade.

Brito et al. (2008) analisaram o efeito de vários produtos e verificaram que os produtos alternativos (detergente, sabão em pó, óleos mineral e vegetal), e os pesticidas: Parathion Metílico e dimetoato, apresentaram eficiência acima de 80% no controle da cochonilha de carmim. Como a camada cerosa da cochonilha é bastante resistente a ação do clima e de produtos químicos, a utilização do sabão e do detergente tem a capacidade de diluir a camada que protege as fêmeas causando desidratação pela exposição solar intensa.

Tabela 2. Eficiência de controle (%) de *Dactylopius opuntiae* após a aplicação de xenobióticos na cultura da palma forrageira. Caetés - PE, 2012.

Tratamentos	Médias*
Controle	5,66 b
Detergente + Água Sanitária	11,11 ab
Óleo de nim	10,88 ab
Metomil	19,88 a
Tiametoxam + lambda – Cialotrina	7,77 ab

*Dados sem transformação, fator isolado.

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Nas três avaliações realizadas (3, 15 e 21 DAA), verifica-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos, nem interação entre os produtos e o período de avaliação (Tabela 3). O que pode ser justificado pela realização de uma única aplicação dos xenobióticos. Nota-se que houve baixa eficiência dos produtos aplicados

em todos os períodos avaliados, chegando a no máximo 22% de eficiência para o inseticida Metomil.

Alguns estudos foram realizados utilizando produtos alternativos no controle da cochonilha, entretanto, os mesmos demonstraram resultados divergentes em relação ao presente trabalho. Silva et al. (2011), testando produtos alternativos, verificaram que a menor mortalidade de colônias de *D. opuntiae* ocorreu nas plantas pulverizadas apenas com a água (testemunha), seguido do sal a 2% e manipueira a 100 e 50%. Os autores observaram que os produtos que apresentaram maior eficiência (após a terceira aplicação) foram o óleo de nim comercial a 1 e 2% (respectivamente 83,33 e 100%), o óleo mineral a 2 % (91,55%) e o óleo mineral associado ao sal a 2 % (79,16%).

Tabela 3. Número médio e eficiência de controle (% C) de colônias de *Dactylopius opuntiae* em diferentes períodos após a aplicação dos xenobióticos na cultura da palma forrageira. Caetés - PE, 2012.

Tratamentos	3 DAA	% C	15 DAA	% C	21 DAA	% C
Controle	16,00 Aa	6,66	21,66 Aa	5,66	24,66 Aa	4,66
Detergente + Água Sanitária	11,00 Aa	13,00	14,33 Aa	10,00	15,66 Aa	10,33
Óleo de nim	7,00 Aa	16,33	13,66 Aa	8,66	14,66 Aa	7,66
Metomil	17,00 Aa	18,66	15,33 Aa	19,00	15,66 Aa	22,00
Tiametoxam+Lambda-Cialotrina	11,33 Aa	9,33	16,00 Aa	7,00	17,00 Aa	7,00

DAA – Dias após aplicação

Médias seguidas por letras distintas minúsculas, na coluna, e maiúsculas, na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

De acordo com Lima (2002), a palma forrageira apresenta os três requisitos básicos para a aplicabilidade do controle biológico: são plantas perenes, de clima tropical, e apresenta um inseto sésil como única e/ou principal praga sugadora de seiva. O clima tropical favorece maior número de inimigos naturais, em relação ao clima temperado, que tem no controle biológico, uma opção viável para poucos insetos (Nava, 2007).

No presente estudo, observou-se que o número de inimigos naturais predando a cochonilha do carmim foi baixo (Figura 2), o que também foi verificado por Brito et al. (2008) e por Lopes et al. (2009c). Entretanto, vale salientar que a presença de insetos com potencial para o controle da praga, independente da aplicação dos produtos, merece maior atenção, pois demonstra a possibilidade de integração dos métodos químico e biológico para o manejo da praga nesta cultura.

Entre os fatores que podem influenciar ocorrência dos inimigos naturais, destacam-se a abundância e a qualidade das presas (Oliveira et al., 2002) que depende de ano para ano e região para região, e fatores ecológicos, como temperatura e umidade relativa, que influenciam diretamente o desenvolvimento e o comportamento dos insetos (Castro, 2011).

Lopes et al. (2009d) avaliaram a eficiência do óleo de laranja Prev – Am nas concentrações de 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 e 0,7%, constataram que todas as concentrações utilizadas apresentaram eficiência superior a 90%. No entanto, as concentrações de 0,6 e 0,7% foram letais para larvas do inimigo natural *Baccha* sp. e seletivos para os adultos das joaninhas (*Cycloneda sanguinea* e *Scymnus intrusus*). No presente trabalho observa-se que a aplicação dos produtos não foram, aparentemente, letais para os inimigos naturais, já que os mesmos tiveram comportamento semelhantes antes e após aplicação dos xenobióticos.

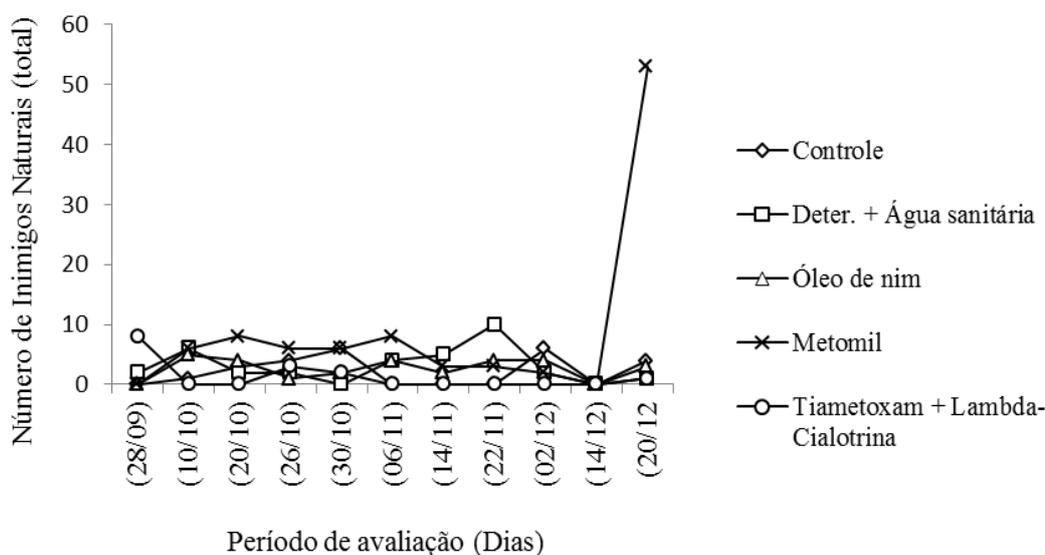


Figura 2. Flutuação populacional de inimigos naturais da cochonilha do carmim na palma cultivar gigante tratada por diferentes xenobióticos. Caetés – PE, 2012.

Em trabalhos realizados no México com os inimigos naturais encontrados na palma da espécie *O. ficus-indica*, verificaram-se que a espécie mais frequente com cerca de 45% foi *Leucopis bellula*, seguidos de *Symphorobius barberi* com 25,1%, *Laetilia coccidivora* com (17,9%) e *Hyperaspis trifurcata* com 12,0% do total de inimigos

naturais. Também foi observada a presença de *Chilocorus cacti* e *Salpingogaster cochenillivorus* (Rico et al., 2010).

Lima et al. (2011), em coletas realizadas em várias localidades na região de Pernambuco com palma (cv. gigante) infestada com a cochonilha do carmim, verificaram a presença de inimigos naturais de três famílias de insetos, sendo duas da ordem Coleoptera (Coccinellidae e Nitidulidae) e outra da ordem Diptera (Syrphidae). Segundo os autores, três espécies da família coccinellidae foram as mais predominantes: *Exochomus* sp., *Coccidophilus citricola* e *Zagreus bimaculosus*.

No presente estudo observou-se a presença de três inimigos naturais: *Zagreus bimaculosus*, *Cybocephalus* sp. e larvas de *Salpingogaster cochenillivorus*, sendo o *Z. bimaculosus* o mais frequente. No entanto, observa-se que a distribuição foi bastante variável em todos os períodos avaliados (Figura 3).

Estudos realizados por Castro (2011), estimou que o coleóptero *Z. bimaculosus* pode completar até 8,6 gerações/ano, nas temperaturas normais do sertão de Pernambuco (28 a 30°C), sendo considerado, pela autora, um promissor agente biológico nativo no controle da cochonilha.

Segundo Lima (2002), *Cybocephalus* sp., apresenta um papel ecológico secundário, mas muito significativo, pois, além de agirem sobre os ovos e formas imaturas da cochonilha do carmim, também conseguem chegar a locais onde os predadores maiores não o fazem.

Em trabalho realizado por Rico et al. (2010), os autores observaram que as larvas de *Salpingogaster cochenillivorus*, consomem colônias completas de *D. opuntiae*, desde o exterior, se movimentando para o interior, e ao final deixam apenas a cera da colônia.

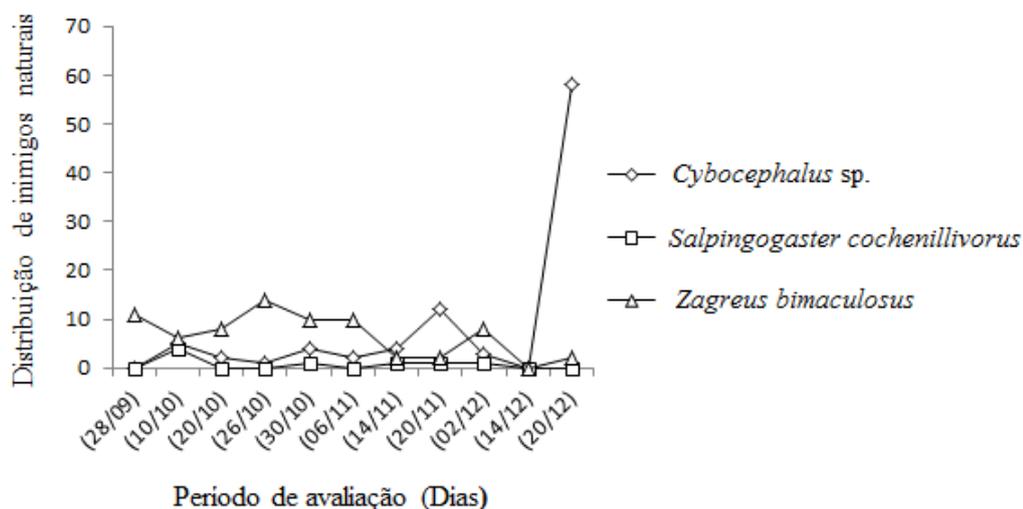


Figura 3. Distribuição de inimigos naturais na palma cultivar gigante, infestada pela cochonilha do carmim. Caetés – PE, 2012.

Os efeitos dos xenobióticos sobre a microbiota dos solos coletados estão representados na Tabela 4. Observa-se que para todos os períodos de incubação, houve incremento na quantificação do CO₂. Segundo Sá et al. (2000), a maior atividade microbiana é indicada por uma alta taxa respiratória, que causa decomposição da matéria orgânica do solo e, conseqüentemente, liberação de nutrientes para as plantas. Por outro lado, Islam & Weil (2000) citaram que altas taxas respiratórias podem estar relacionadas ao alto nível de produtividade do ecossistema do solo ou distúrbio ecológico (que pode ter sido causado pela aplicação de agrotóxicos).

Nos primeiros períodos de incubação (3 e 6 dias), verifica-se que não houve diferença entre os xenobióticos, quanto a respiração microbiana, demonstrando que o efeito dos produtos, na microbiota no solo, não ocorre de forma imediata. A partir de 9 dias de incubação, percebe-se que a quantidade de CO₂ liberado nas amostras de solo foi maior nas parcelas com a aplicação do inseticida Tiametoxam+Lambda-Cialotrina, em relação ao controle, não diferindo dos demais tratamentos. A partir de 16 dias de incubação até a última leitura (30 dias), verifica-se a mesma tendência para os inseticidas tiametoxam + lambda-cialotrina e metomil, em relação ao CO₂ acumulado, sendo maior, em comparação aos demais tratamentos (controle, detergente + água sanitária e o óleo de nim).

Tabela 4. Quantidade de CO₂ (C-CO₂) acumulada, em função da aplicação de xenobióticos e dos períodos de incubação. Caetés - PE, 2012.

Tratamentos	Período de Incubação (Dias)						
	3	6	9	13	16	20	30
	CO ₂ Acumulado (mg)						
Controle	4,66Ea	9,66DEa	13,0CDEb	17,66BCDb	22,66BCbc	26,66Bc	38,0Ac
D. + Á. S.*	5,33Ea	9,33DEa	11,33CDEab	15,66BCDb	20,0 BCbc	24,66ABc	33,0Ac
Ó. de nim**	6,00Ea	10,00DEa	12,66DEab	18,66CDab	24,0BCbc	29,33Bbc	39,66Abc
Metomil	6,66Ea	11,66Ea	16,66DEab	24,66CDab	30,66BCab	37,00Bab	48,33Aab
T. + L. C.***	10,0Fa	16,00EFa	21,66DEa	28,0CDa	34,66BCa	42,0Ba	55,33Aa

* Detergente + água sanitária; ** Óleo de nim; ***Tiametoxam+Lambda-Cialotrina.

Médias seguidas por letras distintas minúsculas, na coluna, e maiúsculas, na linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A menor quantidade de C-CO₂, nas últimas leituras, das parcelas com aplicação de água e detergente + água sanitária, pode ser indicativo de maior eficiência no uso dos recursos do solo pelos micro-organismos, desde que se mantenha a mesma biomassa microbiana (Sakamoto & Obo, 1994 *apud* Tironi et al., 2009).

De acordo com Sakamoto & Obo (1994) *apud* Reis et al. (2008), xenobióticos como os herbicidas provavelmente provocam desequilíbrio na comunidade microbiana, podendo inibir determinadas populações de micro-organismos e estimular outras populações insensíveis ao composto. Como consequência, a biomassa microbiana utiliza essas células mortas como fonte de C e energia no seu metabolismo. Desse modo, segundo Reis et al. (2008), justifica-se, em parte, o aumento da produção de C-CO₂. Entretanto, Castro Júnior et al. (2006), ao estudarem o efeito de xenobióticos na microbiota do solo, verificaram que alguns compostos são mais fáceis de serem metabolizados e utilizados como fonte de nutrientes e energia, e elevam a atividade pela maior liberação de CO₂, provavelmente por proporcionar mais estímulo e, conseqüentemente, aumento da microbiota do solo.

Moreno et al. (2007), avaliando doses elevadas do herbicida atrazina no solo do semiárido, verificaram tendência para o incremento da respiração microbiana com o tempo de incubação, o que segundo os autores, pode ser explicado pela capacidade que um pequena fração da população microbiana do solo tem de degradar completamente a atrazina para produzir CO₂ e H₂O.

Tironi et al. (2009), estudando o efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo, verificaram maior evolução de C-CO₂ acumulado, quando utilizou duas vezes a dose de referência (10 mg dm⁻³ de solo) do herbicida ametryn, sendo a menor taxa de

evolução de C-CO₂ em solos sem aplicação de herbicida (controle). Os autores observaram que nos tratamentos que envolveram a mistura de trifloxysulfuron-sodium + ametryn, a evolução de C-CO₂ foi maior quando se aplicaram duas, quatro e oito vezes a dose de referência, diferenciando-se da dose 1 e da testemunha sem herbicidas.

Com doses 10 vezes mais elevadas do que o recomendado em campo, Zabaloy et al. (2008), verificaram, no geral, que os herbicidas 2,4-D, metsulfuron-metilo e glifosato exercem poucos efeitos sobre as comunidades microbianas do solo. Araújo et al. (2003) verificaram que solos com aplicação de glifosato apresentaram maior respiração microbiana no início da incubação, mostrando que os micro-organismos são os principais responsáveis pela biodegradação do herbicida no solo. Entretanto, Reis et al. (2009) não verificaram alterações na taxa respiratória de solo tratado com fomesafen + fluazifop-p-butil e glifosato e com aplicação ou não da mistura de inseticida (endossulfan) + fungicida (tebuconazole). Ressalta - se que poucos trabalhos estão disponíveis sobre o efeito de inseticidas na microbiota do solo.

Segundo Andréa & Pettinelli (2000), os efeitos das aplicações de pesticidas variam conforme o tipo de solo, provocando, tanto estímulo como inibição da respiração do solo e da biomassa microbiana.

Com a aplicação dos diferentes xenobióticos testados, verifica-se que houve diferença entre os tratamentos para o número de unidades formadoras de colônias (UFC). Os solos tratados com apenas água (controle) e detergente + água sanitária apresentaram as maiores populações, 0,96 e 0,94 x 10² UFC/g de solo, respectivamente, em relação aos demais tratamentos (Figura 4), que não diferiram entre si. Ressalta-se que os solos tratados com o óleo de nim, metomil e tiametoxam lambda - cialotrina diminuiram a densidade populacional bacteriana.

Oliveira (2004), avaliando a diversidade microbiana em diversos sistemas agrícolas, na região semiárida, verificou em cultivo de palma forrageira (*O. Ficus indica*), densidades populacionais de 18, 21 e 127 UFC x 10g/solo, respectivamente, bactérias, fungos e actinomicetos. No presente trabalho em média foi encontrado 0,93 x 10² UFC.g⁻¹ de bactéria, demonstrando baixa UFC, e esta diferença deve estar relacionada ao teor de matéria orgânica, temperatura e umidade, uma vez que a abundância e a atividade dos micro-organismos são suscetíveis a estas variações sazonais (Zilli et al., 2003). A falta de chuva durante este ano pode ter sido, também,

outro fator que influenciou na menor densidade de UFC deste solo. Segundo Costa & Melo (2012) um número considerável de espécies de bactérias, principalmente associados à rizosfera de plantas, exercem efeitos benéficos no crescimento da planta.

Farias et al. (2009) estudando o efeito da aplicação dos pesticidas Orthene e Actara, na cultura epifítica do citros, verificaram que a densidade populacional total de *Methylobacterium* variou em torno de 10^4 a 10^6 UFC.g⁻¹ TVF (tecido vegetal fresco), contudo não foi observado influência da aplicação de diferentes pesticidas sobre a densidade populacional.

Kuklinsky-Sobral (2003) avaliando a densidade total da comunidade bacteriana de cultivares de soja, crescidas em locais com e sem aplicação de pré-plantio do herbicida glifosato, verificou densidades em torno de 10^4 a 10^6 UFC/g em e 10^8 e 10^{10} UFC/g, respectivamente, em comunidade bacteriana endofítica e epifítica. A autora relata a ocorrência de interações entre a densidade e outros fatores analisados, como cultivar, tecido vegetal, variação sazonal e estágio de desenvolvimento do hospedeiro.

Os efeitos dos pesticidas sobre a microflora do solo foram estudados em solos que receberam aplicações repetidas de carbofuran e carbosulfan (inseticidas), iprodione e vinclozolina (fungicidas), e MCPA, simazina e paraquat (herbicidas), por Duah-Yentumi & Johnson (1986), que relataram que o carbofuran teve os menores efeitos sobre o número de populações não alvo (bactérias, fungos e protozoários).

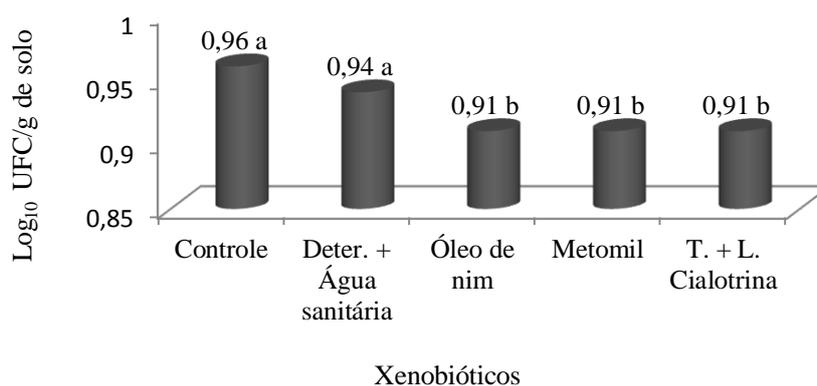


Figura 4. Quantificação da população de bactérias do solo tratado com xenobióticos. Caetés – PE, 2012.

No presente trabalho, avaliando-se o crescimento bacteriano em 24, 48 e 72h após incubação, verificou-se que, após 24h de incubação, todos os tratamentos se

comportaram da mesma forma, não ocorrendo diferença estatística. Os solos com aplicação de água (controle) e detergente + água sanitária, apresentaram bactérias com crescimento mais lento, sendo distribuídos no decorrer das avaliações. Observa-se que para os demais tratamentos (óleo de nim, metomil e tiametoxam+lambda-cialotrina), ocorreu crescimento mais acelerado após 24h, diminuindo a partir de 48h de incubação. Com 72h verifica-se que não ocorreu surgimento de novas colônias para os inseticidas metomil e tiametoxam+lambda-cialotrina (Figura 5).

Fernandes et al. (2012) estudando o crescimento da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae*, verificaram que os inseticidas imidacloprid, fipronil e thiametoxam não afetaram o crescimento quando utilizados em concentração equivalente a dose comercial. Entretanto, ao aplicarem doses duas vezes maiores ao recomendado, verificaram que os inseticidas endosulfan e carbofuran promoveram redução no crescimento de *H. seropedicae*. Segundo Peres (2000) a presença de resíduos de pesticidas permitem que os micro-organismos tenham seu crescimento e metabolismo estimulados ou inibidos.

Castro Júnior et al. (2006), avaliado o número de colônias bacterianas com 1 e 31 dias de incubação, verificaram variação para os tratamentos testemunha, glifosato puro (95%) e glifosato comercial (43%), respectivamente de 1,78; 1,33; 1,11 x 10⁵ UFC g solo no primeiro dia de incubação, para 2,63; 2,89; 2,45 x 10⁵ UFC g solo com 31 dias de incubação.

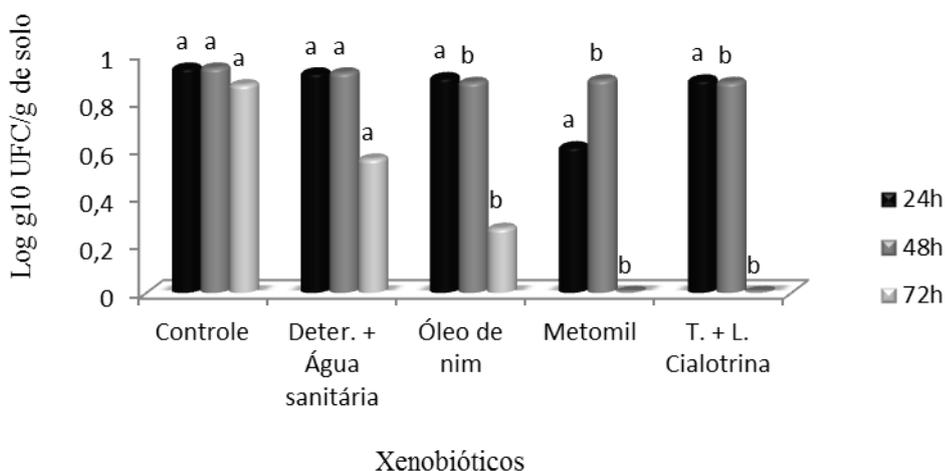


Figura 5. Crescimento bacteriano do solo tratado com xenobióticos, após 24, 48 e 72 horas de incubação. Caetés – PE, 2012.

Observa-se através da característica morfológica (coloração), que as colônias bacterianas apresentaram coloração branca, bege, rosa, amarela e aspecto opaco. Verifica-se que houve predomínio de colônias brancas (Figura 6), independente da aplicação de xenobióticos. Apesar dessa característica indicar semelhança morfológica, pressupondo visualmente baixa variabilidade genética entre as colônias, observou-se através da técnica BOX-PCR uma alta variabilidade entre as mesmas, demonstrando que esta variável nem sempre indica alta ou baixa variabilidade, sendo imprescindível a utilização de outras técnicas, mais detalhadas como as técnicas moleculares (PCR).

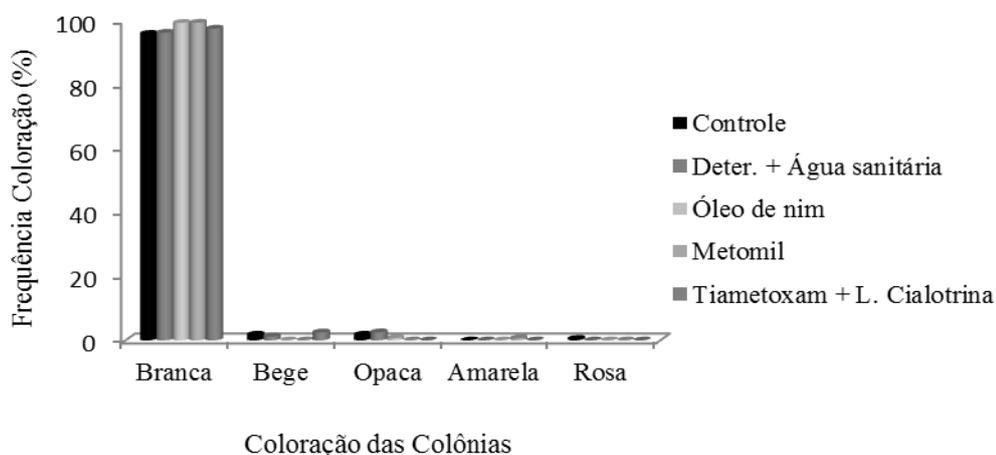


Figura 6. Frequência de coloração das bactérias, provenientes de solos tratados com xenobióticos. Caetés – PE, 2012.

A análise de variabilidade genética, pela técnica BOX-PCR foi realizada em 19 colônias de cor branca de bactérias provenientes dos solos com resíduos de xenobióticos. A técnica utilizada permitiu a visualização de perfis de banda, geradas pela amplificação de sequências repetitivas do DNA genômico bacteriano, utilizando o *primer* BOX A1R (Figura 7). Os diferentes padrões de bandas indicam a variabilidade genética entre essas bactérias.

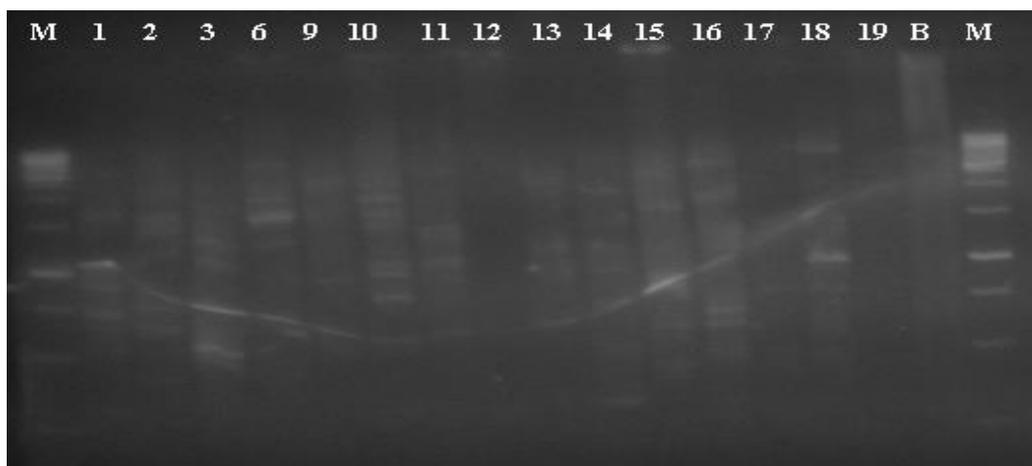


Figura 7. Amplificação, com o marcador BOX A1R, de alguns isolados (15) oriundos de solo com resíduos de xenobióticos. Legenda: M (1kb) – marcador; controle (1, 2, 3, 6 e 9); Detergente + água sanitária (10 a 18); Óleo de nim (19); B – amostra sem DNA.

A análise dos perfis de banda foi realizada através da construção de um dendrograma de similaridade, com ausência e presença de banda. O índice de similaridade de Jaccard indicou alta diversidade genética entre as colônias. Apenas as colônias UAGtx 6 e UAGtx 15 apresentaram maior grau de similaridade (60%). As demais colônias avaliadas apresentaram índice de similaridade abaixo de 60%, o que confirma a alta diversidade genética (Figura 8).

As colônias UAGtx 6 e UAGtx 15 foram isoladas de solo com aplicação de diferentes xenobióticos, sendo a primeira oriunda de área com aplicação de água (controle), enquanto que a segunda é originada de área com aplicação de detergente + água sanitária. O dendrograma não mostrou um efeito claro dos xenobióticos aplicados.

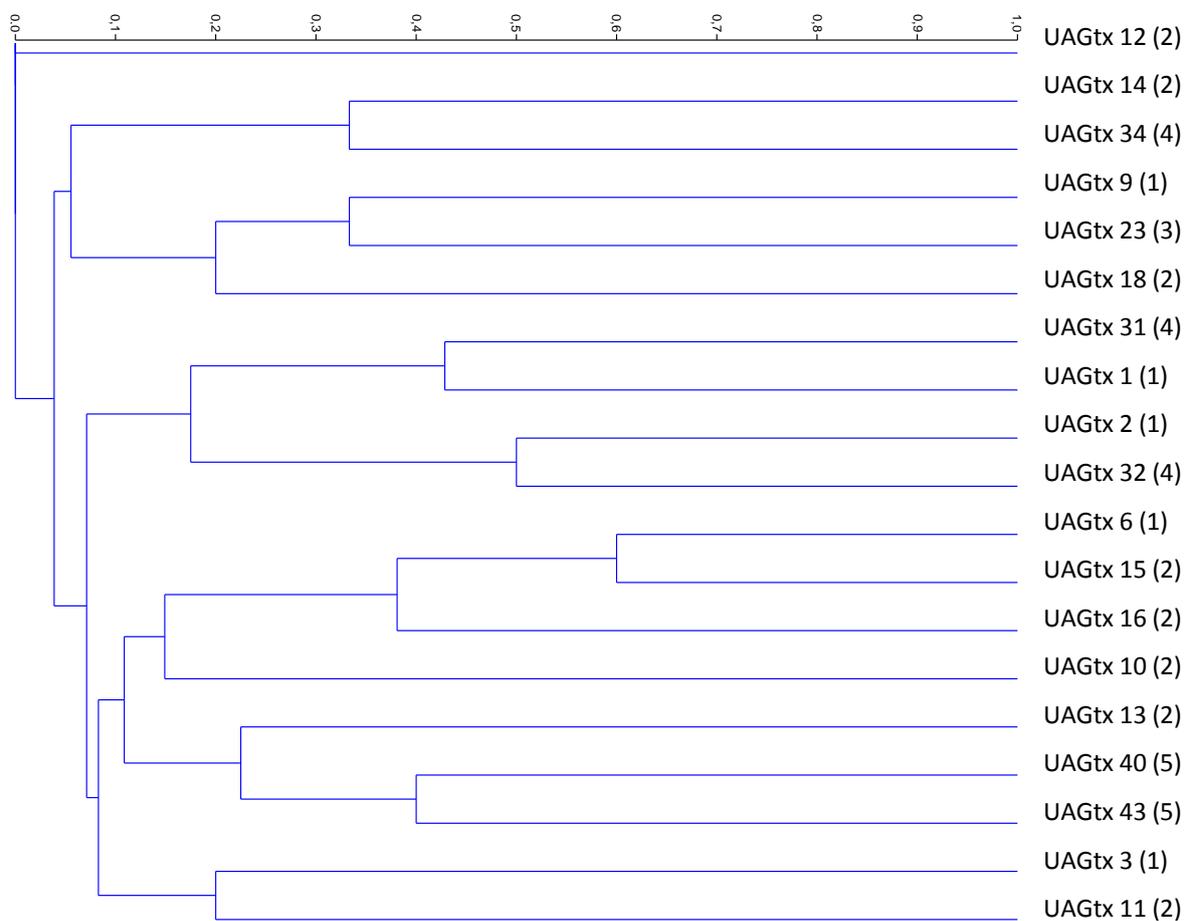


Figura 8. Dendrograma de similaridade mostrando o agrupamento das bactérias de coloração branca nos solos tratados com xenobióticos: (1) controle; (2) Detergente + água sanitária; (3) Óleo de nim; (4) Metomil; (5) Tiametoxam+Lambda-Cialotrina, associadas à cultura da palma, com base nas sequências obtidas pelo *primer* BOX A1R, através do coeficiente de Jaccard e pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Average).

4. CONCLUSÕES

1. Nas condições avaliadas no presente estudo, os produtos utilizados (xenobióticos) não atuaram de maneira eficaz no controle de populações da cochonilha do carmim, apresentando percentual de eficiência abaixo de 22%.
2. Foram encontrados inimigos naturais na palma infestada por *Dactylopius opuntiae* após a aplicação dos xenobióticos, mesmo que em baixas densidades, sendo *Zagreus bimaculosus* o mais frequente.
3. Os inseticidas metomil e tiametoxam lambda-cialotrina, aplicados no solo, aumentaram o desprendimento de CO₂ da microbiota do solo, demonstrando que os mesmos são seletivos para algumas bactérias e para outras servem de substrato.
4. No solo tratado com água (controle) e com detergente + água sanitária, ocorreu maior densidade bacteriana, em relação aos demais xenobióticos que diminuiram a comunidade bacteriana.
5. Os solos com aplicação de água (controle) e detergente + água sanitária, apresentaram bactérias com crescimento mais lento, e os demais tratamentos, ocorreu crescimento mais acelerado com 24h, diminuindo a partir de 48h de incubação.
6. Na característica morfológica (coloração) das colônias, ocorreu maior frequência de coloração branca, independentemente dos xenobióticos aplicados.
7. A técnica molecular BOX-PCR, revelou alta variabilidade genética entre as bactérias analisadas de cor branca.
8. Diante da importância da palma forrageira para o semiárido é de suma importância estudos mais detalhados sobre os efeitos dos xenobióticos sobre a microbiota e os insetos associados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT: **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**, acesso 11 de jan. 2013. Disponível em: < <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>.
- ANDRÉA, M. M.; PETTINELLI JÚNIOR, A. **Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microorganismos de solos**. Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v.67, p.223-228, 2000.
- ANDREOTE, F. D.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Assessing the diversity of bacterial communities associated with plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.417-432, 2009.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABAKERLI, R. B.; SOUZA, L. S. Biodegradação de glifosato em dois solos brasileiros. **Pesticida: Revista Ecotoxicológica e Meio Ambiente**, Paraná, v.13, p.157-164, 2003.
- ARAÚJO, W. L.; LACAVA, P. T.; MARCON, J.; LIMA, A. O. S.; SOBRAL, J. K.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. **Guia prático: Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2010. 167p.
- ARRUDA FILHO, G. P.; ARRUDA, G. P. Manejo integrado da cochonilha *Diaspis echinocacti* praga da palma forrageira em Brasil. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**. Costa Rica, 2002, p. 1-4.
- BARBERA, G. História e importância econômica e agroecológica. In: **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma: FAO, Produção e Proteção Vegetal. Tradução (SEBRAE/PB), 1995, p.1-9.
- BEN, S. H.; NEFZAQUI, A.; BEN, S. L. Supplementing spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) based diets with urea treated straw or oldman saltbush (*Atriplex nummularia*). Effects on intake, digestion and sheep growth. **Journal of Agricultural Science**, v.138, p.85-92, 2002.
- BRITO, C. H.; LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C.; BATISTA, J. L. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no controle da cochonilha do carmim na Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, p.1-5, 2008.

- CASTRO JÚNIOR, J. V.; SELBACH, P. A.; ZÁCHIAAYUB, M. A. Avaliação do efeito do herbicida glifosato na microbiota do solo. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.16, p.16-30, 2006.
- CASTRO, R. M. **Biologia e exigências térmicas de *Zagreus bimaculosus* (MULSANT) (Coleóptera: Coccinellidae)**. 2011. 68 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife, 2011.
- CAVALCANTI, V. A. L. B.; SENA, R. C.; COUTINHO, J. L. B.; ARRUDA, G. P.; RODRIGUES, F. B. Controle das cochonilhas da palma forrageira, acesso 14 de jan. 2013. Disponível em: <<http://www.ipa.br/resp38.php>>.
- CHAER, M. C.; TÓTOLA, M. R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.31, p.1381-1396, 2007.
- COSTA, R. G.; BELTRÃO FILHO, E. M.; MEDEIROS, A. N.; GIVISIEZ, P. E. N.; QUEIROGA, R. C. R. E.; MELO, A. A. S. Effects of increasing levels of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L. Miller) in the diet of dairy goats and its contribution as a source of water. **Small Ruminant Research**, v.82, p.62–65, 2009.
- COSTA, F. E. C.; MELO, I. S. Endophytic and rhizospheric bacteria from *Opuntia ficus-indica* mill and their ability to promote plant growth in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **African Journal of Microbiology**, v.6, p.1345-1353, 2012.
- DUAH-YENTUMI, S.; JOHNSON, D. B. Changes in soil microflora in response to repeated applications of some pesticides. **Soil Biology & Biochemistry**, v.18, p.629-635, 1986.
- DUQUE, J. G. O. **Nordeste e as lavouras xerófilas**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2004. 330 p.
- FARIAS, A. R. B.; KUKLINSKY-SOBRAI, J.; BADJI, C. A.; SILVA, M. M.; FREIRE, F. J.; SILVA, M. O.; LIRA-CADETE, L.; ALMEIDA, A. V. D. L. Aplicação de pesticidas x interações entre *Methylobacterium* spp. epifíticas e citros. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. **Anais...** Garanhuns. p.1-2, 2009.
- FERNANDES, M. F.; PROCOPIO, S. O.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TELES, D. A.; SANT'ANNA, S. A. C.; REIS, V. M. Toxicidade de inseticidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar para a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae*. **Revista Ciências Agrárias**, v.55, p.318-326, 2012.

- FERREIRA, E. P. B.; DUSI, A. N.; COSTA, J. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Assessing insecticide and fungicide effects on the culturable soil bacterial community by analyses of variance of their DGGE fingerprinting data. **European Journal of Soil Biology**, v.45, p.466-472, 2009.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- HOFFMANN, W. Etnobotânica. In: **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma: FAO, Produção e Proteção Vegetal. Tradução (SEBRAE/PB), 1995, p.12-19.
- ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.79, p.9-16, 2000.
- KUKLINSKY-SOBRAL, J. **A comunidade Bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos - planta**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003. 189p. Tese de Doutorado.
- LIMA, M. S.; SILVA, D. M. P.; FALÇÃO, H. M.; FERREIRA, W. M.; SILVA, L. D.; PARANHOS, B. J. Predadores associados à *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) em palma forrageira no estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Chilena de Entomologia**, Santiago, v. 36, p.51-54, 2011.
- LIMA, I. M. M. Registro da Ocorrência de *Cybocephalus* sp. (Coleoptera: Nitidulidae) Predando Espécies-Praga de Diaspididae (Hemiptera), no Estado de Alagoas. **Neotropical Entomology**, v.31, p.156-159, 2002.
- LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; CUNHA, M. V.; MELLO, A. C. L.; FARIAS, I.; SANTOS, D. C. Utilização da palma forrageira na pecuária leiteira do semi-árido. **Anais...** Recife: APCA, p.107-120, 2005.
- LONGO, S.; RAPISARDA, E. Pragas da palma forrageira. In: **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma: FAO, Produção e Proteção Vegetal. Tradução (SEBRAE/PB), 1995, p.12-14.

- LOPES, E. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H.; SANTOS, D. C. PRAGAS DA PALMA. In: **Palma forrageira: Cultivo, uso atual e perspectiva de utilização no semiárido Nordestino**. João Pessoa: FAEPA/EMEPA, 2007, p. 36-41.
- LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C.; BRITO, C. H.; BATISTA, J. L. Velocidade de infestação e dispersão de *Dactylopius opuntiae* Cockerell, 1896 em palma gigante na Paraíba. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.6, p.196-205, 2009a.
- LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C.; BRITO, C. H.; BATISTA, J. L. Velocidade de dispersão de *Dactylopius opuntiae* em palma gigante (*Opuntia ficus-indica*) **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.6, p.644-649, 2009b.
- LOPES, E. B.; BRITO, C. H.; BATISTA, J. L. Crescimento populacional da cochonilha do carmim em palma gigante infestada artificialmente em condições de laboratório. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.6, p.083-090, 2009c.
- LOPES, E. B.; BRITO, C. H.; ALBUQUERQUE, I. C.; BATISTA, J. L. Desempenho do óleo de laranja no controle da cochonilha do carmim em palma gigante. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.6, p.252-258, 2009d.
- MENA-COVARRUBIAS J. Alternativas de control biológico de plagas del nopal. **Revista Salud Pública y Nutrición**, v.5, p.93-108, 2010.
- MENDOZA, C. P.; HERNÁNDEZ, R. N.; CÁZARES, C. L.; HERNÁNDEZ, H. G. Efectividad biológica de productos biodegradables para el control de la cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Homoptera: Dactylopiidae). **Acta Zoológica Mexicana**, Xalapa, v.20, p. 99-106, 2004.
- MISRA, A. K.; MISHRA, A. S.; TRIPATHI, M. K.; CHATURVEDI, O. H.; VAITHIYANATHAN, S.; PRASAD, R.; JAKHMOLA, R. C. Intake, digestion and microbial protein synthesis in sheep on hay supplemented with prickly pear cactus [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] with or without groundnut meal. **Small Ruminant Research**, v.63, p.125-134, 2006.
- MORENO, J. L.; ALIAGA, A.; NAVARRO, A.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. **Applied Soil Ecology**, v.35, p.120-127, 2007.
- NAVA, D. E. **Controle biológico de insetos-praga em frutíferas de clima temperado: uma opção viável, mas desafiadora**. Pelotas: EMBRAPA, 2007. 22p. (Documentos, 208).

- OLIVEIRA, J. E. M.; TORRES, J. B.; MOREIRA, A. F. C.; RAMALHO, F. S. Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.7-14, 2002.
- OLIVEIRA, V. C. **Atividade enzimática, população e análise de DNA da biodiversidade microbiana do solo em agroecossistemas do Semi-Árido**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, 2004. 127p. Dissertação de Mestrado.
- PERES, T. B. **Efeito da aplicação de pesticidas na atividade microbiológica do solo e na dissipação do ¹⁴C-Paration Metílico**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2000. 87p. Dissertação de Mestrado.
- REIS, M. R.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; GUIMARÃES, A. A.; FERREIRA, E. A.; SANTOS, J. B.; CECON, P. R. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar após aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v.26, p.323-331, 2008.
- REIS, M. R.; SILVA, A. A.; FREITAS, M. A. M.; PEREIRA, J. L.; COSTA, M. D.; PICANÇO, M. C.; FERREIRA, E. A.; BELO, A. F.; COELHO, A. T. C. P.; SILVA, G. R. Impacto do glyphosate associado a inseticida e fungicida na atividade microbiana e no potencial de solubilização de fosfato em solo cultivado com soja Roundup Ready®. **Planta Daninha**, Viçosa, v.27, p.729-737, 2009.
- RICO, V. J. M.; FLORES, L. J. R.; LEYVA, R. E.; AGUILERA, M. G.; VALDEZ, J. M. Enemigos naturales de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller en el centro de México. **Acta Zoológica Mexicana**, Xalapa, v.26, p.415-433, 2010.
- SÁ, T. C. L. L.; MARQUES, M.; VASCONCELLOS, C. A.; FILHO, I. P.; FRANÇA, G. E.; CRUZ, J. C. Evolvimento de dióxido de carbono e mineralização de nitrogênio em Latossolo vermelho-escuro com diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, p.581-589, 2000.
- SANTOS, D. C.; SANTOS, M. V. F.; FARIAS, I.; DIAS, F. M.; LIRA, M. A. Desempenho Produtivo de Vacas 5/8 Holando/Zebu Alimentadas com Diferentes Cultivares de Palma Forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.12-17, 2001.
- SANTOS, D. C.; FARIAS, I.; LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; ARRUDA, G. P.; COELHO, R. S. B.; DIAS, F. M.; MELO, J. N. **Manejo e utilização da palma**

- forageira (*Opuntia e Nopalea*) em Pernambuco.** Recife: IPA, 2006. 48p. (IPA. Documentos, 30).
- SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F. Agrotóxicos e meio ambiente. In: SILVA, C. M. M. S.; MELO, S. I.; FAY, E. F., ed. **Biotransformação de agrotóxicos e biorremediação.** São Paulo: Jaguariúna, 2005. P. 145-182.
- SILVA, C. A. D.; VIANA, E. G. H.; SOUZA FILHO, J. S.; PEREIRA, A. P. A.; ALMEIDA, A. V. D. L.; CARNEIRO, E. L.; SILVA FILHO, L. A.; GOMES, L. R.; BADJI, C. A. Impacto de detergente na taxa respiratória de microrganismo do solo. In: IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão. **Anais...** Garanhuns. p.1-3, 2009.
- SILVA, D. M. P.; BORGES, L. R.; SANTOS, E. A.; COSTA, E. K. S. L.; AQUINO, R. E.; LACERDA, C. A. Utilização de produtos alternativos para o controle da cochonilha do carmim *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) em palma forrageira. In: II Congresso brasileiro de palma e outras cactáceas. **Anais...** Garanhuns. p.1-3, 2011.
- TIRONI, S. P.; BELO, A. F.; FIALHO, C. M. T.; GALON, L.; FERREIRA, E. A.; SILVA, A. A.; COSTA, M. D.; BARBOSA, M. H. P. Efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo. **Planta Daninha**, Viçosa, v.27, p.995-1004, 2009.
- WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. A.; ANDRADE, D. K. B.; VÉRAS, A. S. C.; FARIAS, I.; LIMA, L. E.; DIAS, A. M. A. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.273-281, 2002.
- ZABALOY, M. C.; GARLAND, L. J.; GOMEZ, M. A. Na integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. **Applied Soil Ecology**, v.40, p.1-12, 2008.
- ZILLI, J. E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M. C. P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.20, p.391-411, 2003.
- ZIMMERMANN, H. G.; MORAN, V. C. Biological control of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae), in South Africa. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v.37, p.29-35, 1991.