

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/05/2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS E
COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS PARA O MANEJO DE
Diaphorina citri KUWAYAMA, (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

ANA PAULA FERREIRA PINTO

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp -
Campus de Botucatu, para obtenção do
título de Doutora em Agronomia
(Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP
Julho – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS E
COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS PARA O MANEJO DE
Diaphorina citri KUWAYAMA, (HEMIPTERA: Liviidae)**

ANA PAULA FERREIRA PINTO

Orientador: Prof. Dr. Antonio Batista Filho

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp -
Campus de Botucatu, para obtenção do
título de Doutora em Agronomia
(Proteção de Plantas)

BOTUCATU-SP
Julho – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P659p Pinto, Ana Paula Ferreira, 1985-
Patogenicidade de fungos entomopatogênicos e compatibilidade com inseticidas para o manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, (Hemiptera: Liviidae) / Ana Paula Ferreira Pinto. - Botucatu : [s.n.], 2016
x, 91 f. : fots. color., grafs. color., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2016
Orientador: Antonio Batista Filho
Inclui bibliografia

1. Frutas cítricas - Doenças e pragas. 2. Inseto como transmissor de doenças das plantas. 3. Fungos patogênicos. 4. Defensivos agrícolas. I. Batista Filho, Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

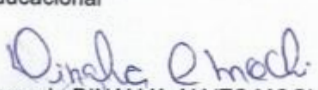
TÍTULO: "PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS PARA O MANEJO DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: Liviidae)"

AUTORA: ANA PAULA FERREIRA PINTO
ORIENTADOR: ANTONIO BATISTA FILHO

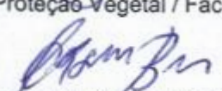
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

DOUTOR ANTONIO BATISTA FILHO
Laboratório de Controle Biológico / INSTITUTO BIOLÓGICO


Dr. LUCAS DETOGNI SIMI
Kroton Educacional


Pós-doutoranda DINALVA ALVES MOCHI
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO
Depto. de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Prof. Dr. EDSON LUIZ LOPES BALDIN
Depto. de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Botucatu, 30 de maio de 2016.

BIOGRAFIA DO AUTOR

ANA PAULA FERREIRA PINTO – Filha de Osvaldo da Silva Pinto e Joana Aparecida Ferreira Pinto, nascida no município de Campinas - SP, em 01 de julho de 1985. Bióloga, graduada pela Pontifícia Universidade Católica de Campinas - SP em dezembro de 2009. Obteve o título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio pelo Instituto Biológico, São Paulo - SP no ano de 2012. Possui publicações na área de controle biológico de pragas, participou de diversos eventos nacionais e internacionais sobre controle biológico. Cursou Doutorado em Proteção de Plantas pela Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP – Campus de Botucatu - SP, 2016.

“A tarefa não é tanto ver o que ninguém viu ainda,
mas pensar o que ninguém pensou sobre algo que todos veem”

Arthur Schopenhauer

(1788 – 1860)

Aos meus pais, dedico.

À minha família, ofereço.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter sempre me dado mais que o necessário para concluir o meu trabalho.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Antonio Batista Filho, pela oportunidade de cursar meu doutorado, por toda a estrutura oferecida para o meu trabalho ser realizado no Instituto Biológico, e por todos os ensinamentos, experiência e ajuda, pelo exemplo profissional a ser seguido. Muito Obrigada!

Aos membros da banca de defesa Prof. Dr. Antonio Batista Filho, Prof. Dr. Lucas Detogni Simi, Prof. Dra. Dinalva Alves Mochi, Prof. Dra. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno e Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin pelas sugestões e correções fundamentais para melhoria deste trabalho.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, que possibilitaram, no aprendizado ou na prestação de serviços, a realização desse trabalho.

Aos pesquisadores do Instituto Biológico, Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida, Dr. Valmir Antonio Costa, Dr. Luis Garrigós Leite e tantos outros que possibilitaram esse trabalho ser concluído.

Ao Dr. Valmir Antonio Costa em especial, pelo auxílio com as fotografias dos resultados desse trabalho.

Aos Dr. César Junior Bueno, Gabriele Saqui, Cristina Queiroz e Fernando Baldo pela ajuda na interpretação dos dados, análise estatística e elaboração de tabelas e gráficos.

Ao Instituto Biológico pela oportunidade de desenvolvimento dos estudos.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Roselaine Nunes da Silva Bueno, agradeço em especial, pelo companheirismo, paciência, ajuda e conselhos, por todas as comidas gostosas que faz, por cuidar de mim depois da minha cirurgia, por todos os abraços e por saber se estou triste só olhando nos meus olhos. Além do seu profissionalismo, sua amizade foi essencial e muito importante para mim, e eu serei eternamente grata.

Aos amigos do Laboratório de Controle Biológico, Ana Beatriz Monteiro, Ana Paula dos Santos Bartels, Isabella Alice Gotti, Jaqueline Lyra Saltorato, Julie Orozco, Lucas Detogni Simi, Lucas Vitor, Milena Yasmin da Silva Souza, Renata Marraschi, Roselaine Nunes da Silva Bueno pela ajuda imprescindível para a realização deste trabalho, atenção, carinho, pela convivência harmoniosa ao longo desses anos, por aguentarem as minhas choradeiras, por ficarem triste quando eu estava triste e pelas risadas infinitas que não vou esquecer jamais e por permitirem compartilhar um pouco da minha alegria com vocês – AMO TODOS VOCÊS!

Agradeço aos meus pais Osvaldo da Silva Pinto e Joana Aparecida Ferreira Pinto. Essa tese foi concluída graças ao apoio e suor de vocês, pois eu não conseguiria sozinha. Muito obrigado por todo o apoio, carinho, paciência, determinação e inspiração.

Aos meus irmãos Alessandro Ferreira Pinto e Fábio Ferreira Pinto, pela amizade, companheirismo e carinho.

A toda minha família pelo carinho e incentivo.

Ao Felipe Azevedo por todo carinho, dedicação e atenção. Por cada palavra de incentivo, por dividir os momentos felizes, por me apoiar nos piores momentos e mesmo de tão longe conseguir ser meu porto seguro. MUITO OBRIGADA, amo você!

As amigas/irmãs Fernanda Maria Ferreira, Eline Santana, Luciana Ganzarolli, Cibele Suzart, Gabriele Saqui e Michele Vicentini pela amizade, carinho e atenção em todos os momentos difíceis da minha vida e por dividirem comigo tantas alegrias – AMO VOCÊS!

A Dra. Zuleide Alves Ramiro pelo convívio.

Aos queridos companheiros de sofrimento em Botucatu/SP: Fabíola Medeiros, Evelynne Urzêdo Leão, Gabriela Santa Rosa, Stéfani Thais, Mariana Sales, Claudiane Paes, João Victor (Ti-Ralo), Anderson Ravanny, Janaina Matias, Cibele Raio, Patricia Tatemoto e Ivi Back. Muito obrigada por todo carinho, convívio, almoços, festas, cachoeiras e choradeiras. Sem vocês não seria tão bom.

Aos não menos importantes figuras de minha vida, Jack e Theodoro, que mesmo não falando, transmitiram sempre muito amor e companheirismo.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a essa conquista.

SUMÁRIO

1. RESUMO	1
2. SUMMARY	3
LISTA DE TABELAS	5
LISTA DE FIGURAS	7
3. INTRODUÇÃO	9
4. REVISÃO DE LITERATURA	12
4.1. Citricultura	12
4.2. Doenças e pragas dos citros	13
4.3. Huanglongbing (HLB)	15
4.3.1. Características gerais.....	15
4.3.2. Danos.....	16
4.4. Psilídeo dos citros: características gerais e biologia	17
4.4.1. Morfologia.....	17
4.4.2. Hospedeiro	18
4.4.3. Ovos	18
4.4.4. Ninfas	18
4.4.5. Adultos	19
4.5. Distribuição	20
4.6. Formas de controle e legislação	22
4.6.1. Legislação para o HLB.....	22
4.6.2. Controle químico.....	23
4.6.3. Controle biológico.....	25
4.7. Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos fitossanitários	29

5. MATERIAL E MÉTODOS	32
5.1. Obtenção e criação de <i>Diaphorina citri</i>	32
5.2. Fungos entomopatogênicos	33
5.3. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos à ninfas de <i>Diaphorina citri</i> e determinação do tempo letal médio 50% (TL ₅₀).....	36
5.4. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos à adultos de <i>Diaphorina citri</i>	39
5.5. Compatibilidade de produtos fitossanitários utilizados na citricultura em condições de laboratório	40
5.6. Análise estatística.....	43
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
6.1. Obtenção e criação de <i>Diaphorina citri</i>	44
6.2. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos à ninfas de <i>Diaphorina citri</i> e determinação do tempo letal médio 50% (TL ₅₀).....	45
6.3. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos à adultos de <i>Diaphorina citri</i>	53
6.4. Compatibilidade de produtos fitossanitários utilizados na citricultura em condições de laboratório	60
7. CONCLUSÕES.....	72
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1. RESUMO

PATOGENICIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS PARA O MANEJO DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, (HEMIPTERA: LIVIIDAE), Botucatu, 2016.

Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Aluna: ANA PAULA FERREIRA PINTO

Orientador: ANTONIO BATISTA FILHO

Em 2004 foi relatada, nos pomares cítricos do estado de São Paulo, a presença do Huanglongbing. No Brasil, esta doença é causada pelas bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*, que são transmitidas pelo psílideo-dos-citros *Diaphorina citri*. A principal forma de controlar a doença é através do controle do inseto vetor, atualmente realizada com o uso de produtos fitossanitários. A mortalidade de adultos do psílideo por fungos entomopatogênicos tem sido observada em campo, e alguns estudos estão sendo desenvolvidos, há pouca informação na literatura sobre o

efeito desses patógenos no controle microbiano do inseto vetor. Dessa forma, o presente estudo avaliou a patogenicidade de 20 isolados de fungos entomopatogênicos sobre adultos e ninfas de *D. citri* em condições de laboratório e semi-campo, bem como a sua compatibilidade com produtos fitossanitários, de diferentes grupos, utilizados na citricultura. Ninfas e adultos de *D. citri*, provenientes de criação em laboratório, foram expostas à uma concentração de $6,7 \times 10^7$ conídios/mL, avaliando a mortalidade desses insetos. Através dessa mortalidade foi determinado o tempo letal médio para 8 isolados, com maior porcentagem de mortalidade confirmada. A compatibilidade em laboratório foi observada adicionando os produtos químicos ao meio de cultura BDA, foi inoculado com o fungo em três pontos equidistantes da placa de Petri, a qual foi mantida em câmara climatizada tipo BOD por um período de sete dias. Após esse período, foram avaliados o crescimento vegetativo, esporulação, viabilidade do entomopatógeno. Em ensaios de laboratório, todos os produtos afetaram o desenvolvimento dos fungos e foi possível classificar os produtos como moderadamente tóxico, tóxico e compatível.

Palavras-chave: Huanglongbing, *greening*, controle microbiano, fungos entomopatogênicos, psilídeo-dos-citros.

2. SUMMARY

In 2004 it has been reported the presence of HLB, also known as "greening", in citrus orchards at São Paulo state. In Brazil, this disease is caused by bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Candidatus Liberibacter americanus*, which are transmitted by the psyllid-of-citrus *Diaphorina citri*. The main way to control the disease is through the control of the insect vector, which is currently carried out using chemicals. The mortality of psyllid adults by entomopathogenic fungi have been observed in the field and studies are being developed, but little is known about the effect of these pathogens in the insect vector control. Thus, we performed a study to determine the pathogenicity of entomopathogenic fungi on adults and nymphs of *D. citri* in laboratory and semi-field as well as its compatibility with pesticides used in citriculture. Laboratory created nymphs and adults of *D. citri* were exposed to a constant concentration of the pathogen $6,7 \times 10^7$ conidia/ml and it was observed the mortality of these insects. Through this mortality it was determined the median lethal time for 8 isolates, confirmed with the best mortality percentage. Laboratory compatibility was observed by incorporating chemicals to PDA culture medium which, after solidification, were inoculated with the fungus at three equidistant points of the Petri dish, which was kept in BOD chamber

for a period of seven days. After this period, its vegetative growth, sporulation, viability of the pathogen has been evaluated. It has been observed in laboratory that all products affected the development of the fungi and it was possible to classify products as moderately toxic, toxic and compatible.

Keywords: Huanglongbing, greening, microbial control, entomopathogenic fungi, citrus-
psyllid.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem de plantas com sintoma de HLB para regiões do Estado de São Paulo (adaptado de FUNDECITROS, 2012).	21
Tabela 2. Isolados utilizados nos ensaios de patogenicidade.	35
Tabela 3. Isolados utilizados nos ensaios de compatibilidade em condições de laboratório.	40
Tabela 4. Produtos utilizados na cultura de citros para o controle de <i>Diaphorina citri</i> , doses recomendadas segundo lista de produtos registrados para a cultura (MAPA).	42
Tabela 5. Média de mortalidade confirmada de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> por fungos entomopatogênicos, na concentração de $6,7 \times 10^7$ conídios/mL, no 10º dia de avaliação ($T=25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	46
Tabela 6. Porcentagem de mortalidade confirmada de ninfas de <i>D. citri</i> por fungos entomopatogênicos, na concentração de $6,7 \times 10^7$ conídios/mL, no 10º dia de avaliação ($T=25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	50
Tabela 7. Tempos letais médios (TL50) em dias e equação da regressão linear obtidos pela análise Probit para a mortalidade de ninfas de <i>D. citri</i>	50
Tabela 8. Mortalidade confirmada de adultos de <i>Diaphorina citri</i> por fungos entomopatogênicos, na concentração de $6,7 \times 10^7$ conídios/mL, no 10º dia de avaliação ($T=25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	55
Tabela 9. Valores médios do crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado IBCB 276 de <i>Beauveria bassiana</i> na presença de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório, após 7 dias ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	61
Tabela 10. Valores médios do crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado IBCB 348 de <i>Metarhizium anisopliae</i> na presença de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório, após 7 dias ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	62
Tabela 11. Valores médios do crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado IBCB 425 de <i>Metarhizium anisopliae</i> na presença de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório, após 7 dias ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	63
Tabela 12. Valores médios do crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado IBCB 616 de <i>Lecanicillium lecanii</i> na presença de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório, após 7 dias ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	65
Tabela 13. Valores médios do crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado IBCB 619 de <i>Lecanicillium lecanii</i> na presença de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório, após 7 dias ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$; $UR=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).	67

Tabela 14. Valores médios do crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado IBCB 618 de *Lecanicillium* sp. na presença de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório, após 7 dias ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; $\text{UR}=70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas). 68

Tabela 15. Valores do Índice Biológico e classificação de produtos químicos utilizados na citricultura em condições de laboratório..... 70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de plantas eliminadas no estado de São Paulo – Adaptado de levantamento CDA 14/03/2016.....	23
Figura 2. Método de criação: A) e C) plantas mantidas em casa de vegetação; B) brotações; D) plantas nas gaiolas de criação de adultos; E) ninfas e “honeydew”	33
Figura 3. Lâmina para microcultivo	34
Figura 4. Gaiolas individualizadas para testes de TL.....	37
Figura 5. Sequência da pulverização das suspensões sobre <i>Murraya paniculata</i> contendo ninfas de <i>Diaphorina citri</i>	38
Figura 6. Sequência de montagem de patogenicidade adultos de <i>Diaphorina citri</i>	39
Figura 7. Adulto de <i>Diaphorina citri</i> e ovos.	44
Figura 8. Ninfas e ovos de <i>Diaphorina citri</i>	44
Figura 9. Ninfas de 5º instar de <i>Diaphorina citri</i>	45
Figura 10. Mortalidade confirmada de <i>Diaphorina citri</i> após aplicação do isolado IBCB 66 - <i>B. bassiana</i> . A) ninfa de <i>D. citri</i> morta com coloração avermelhada caracterizando a presença de micotoxina; B) ninfa de <i>D. citri</i> morta durante o processo de ecdise com mortalidade confirmada e C) ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada.....	47
Figura 11. Mortalidade confirmada de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> após aplicação de isolados de fungos entomopatogênicos. A) Ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 130 – <i>Isaria fumosorosea</i> ; B) Ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 224 – <i>Beauveria bassiana</i> ; C) Ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 386 – <i>Beauveria brongniartii</i> ; D) Ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 364 – <i>Metarhizium anisopliae</i> ; E) Ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 619 – <i>Lecanicillium lecanii</i> ; F) Ninfa de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 632 – <i>Cladosporium</i> sp.	48
Figura 12. Média de mortalidade confirmada de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> com os isolados de fungos entomopatogênicos, na concentração de $6,7 \times 10^7$ conídios/mL, no 10º dia de avaliação (T=25° ±1°C; UR=70 ±10%; fotofase de 12 horas).....	49
Figura 13. Mortalidade confirmada de adultos de <i>Diaphorina citri</i> após aplicação de isolados de <i>Isaria</i> sp. A) Adulto de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 130 – <i>Isaria fumosorosea</i> ; B) Adulto de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 201 – <i>Isaria fumosorosea</i> ; C) Adulto de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 638 – <i>Isaria fumosorosea</i> ; D) Adulto de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 220 – <i>Isaria farinosus</i> ; E) Adulto de <i>D. citri</i> com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 236 – <i>Paecilomyces lilacinus</i>	56

Figura 14. Mortalidade confirmada de adultos de *Diaphorina citri* após aplicação de isolados de *Beauveria* sp. A) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 66 – *Beauveria bassiana*; B) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 224 – *Beauveria bassiana*; C) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 276 – *Beauveria bassiana*; D) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 331 – *Beauveria brongniartii*; E) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 106 – *Beauveria brongniartii*; F) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 386 – *Beauveria brongniartii*. 57

Figura 15. Mortalidade confirmada de adultos de *Diaphorina citri* após aplicação de isolados de *Metarhizium* sp. A) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 185 – *Metarhizium anisopliae*; B) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 348 – *Metarhizium anisopliae*; C) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 364 – *Metarhizium anisopliae*; D) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 425 – *Metarhizium anisopliae*. 58

Figura 16. Mortalidade confirmada de adultos de *Diaphorina citri* após aplicação de isolados de *Lecanicillium* sp. A) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 616 – *Lecanicillium lecanii*; B) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 619 – *Lecanicillium lecanii*; C) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 618 – *Lecanicillium lecanii*; D) Adulto de *D. citri* com mortalidade confirmada pelo isolado IBCB 76 – *Lecanicillium* sp. 59

Figura 17. Adulto de *Diaphorina citri* com mortalidade confirmada após aplicação do isolado IBCB 632 – *Cladosporium* sp. 59

Figura 18. Crescimento do isolado IBCB 276 de *Beauveria bassiana*, após sete dias de cultivo, em meio de cultura contendo produtos químicos utilizados na citricultura. A) Testemunha – Meio contendo B.D.A.; B) Danimen 300 EC; C) Neem. 60

Figura 19. Crescimento do isolado IBCB 619 de *Lecanicillium lecanii*, após sete dias de cultivo, em meio de cultura contendo produtos químicos utilizados na citricultura. A) Testemunha; B) Malathion 1000 EC; C) Provado 200 SC; D) Tiger 100 EC; E) Neem; F) Engeo Pleno SC; G) Actara 250 WG; H) Sumidan 150 SC; I) Delegate 250 WG; J) Winner 200 SL; K) Lorsban 480 BR; L) Danimen 300 EC. 66

3. INTRODUÇÃO

Os citros são de grande importância econômica mundial, sendo atualmente produzido em 140 países, e segundo projeções do Ministério da Agricultura, a produção de laranja deverá passar de 13,7 milhões de toneladas na safra 2015 para 13,6 milhões de toneladas em 2025 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2015). Os maiores produtores são Brasil, Estados Unidos, China, México e os países do Mediterrâneo (ABDULLAH et al., 2009). Desde a década de 80, o Brasil tornou-se o maior produtor mundial de citros, sendo o líder mundial de produção e exportação de suco de laranja concentrado congelado. A citricultura representa um setor altamente organizado e competitivo, considerada uma das mais destacadas agroindústrias brasileiras. Dentre os estados da federação, São Paulo é o que abriga o maior parque citrícola, considerado também um dos maiores do mundo. Apontada como motivo de orgulho para o país, a cadeia dos citros traz, por meio das exportações, bilhões de dólares à nossa economia. (NEVES et al., 2010).

O setor citrícola, representou em 2013, 3% do PIB agroindustrial do estado de São Paulo. Indicando um desempenho de -22% ao ano. A produção de suco de laranja faturou, em 2013 US\$ 2 bilhões, ocupando 8% da área plantada do estado (CEPEA, 2014). A citricultura gera, entre empregos diretos e indiretos, um contingente de aproximadamente 400 mil postos de trabalho, e uma massa salarial anual de R\$ 676 milhões em 2010 (NEVES et al.,

2010). Produtores de citros faturaram US\$ 2 bilhões em 2009 e o faturamento total da cadeia produtiva de citros foi de US\$ 14,6 bilhões. No Brasil, em 2010, foram quase 165 milhões de árvores produzindo, e na Flórida – EUA foram 60 milhões (NEVES et al., 2010).

Apesar de toda essa importância econômica da citricultura para o Brasil, há muitos aspectos deste setor que merecem mais atenção, como os problemas fitossanitários que reduzem o lucro e tornam as exportações mais difíceis, pois as pragas e doenças exóticas que foram introduzidas no Brasil durante as últimas décadas têm causado muitas perdas econômicas para os produtores (NAVA et al., 2007).

A agricultura visa uma maior produção e para atingir a meta os agricultores têm que conviver com pragas que assolam as plantações e a utilização em massa de produtos fitossanitários vem causando danos ao ambiente e à saúde da população, devido à possibilidade de contaminação direta da aplicação, bem como à contaminação indireta das águas e alimentos (SANTOS, 2014).

Dentre as doenças presentes na cultura está o Huanglongbing (HLB) popularmente conhecido como “*greening*” (TSAI; LIU, 2000; ALEMÁN et al., 2007; BOINA et al., 2009). Essa doença, atualmente, é a maior responsável pelas perdas na citricultura, sendo que sua presença foi relatada em literatura em Março de 2004 no Brasil, no estado de São Paulo, na cidade de Araraquara (BOVÉ, 2006; ALEMÁN et al., 2007; NAVA et al., 2007).

Algumas técnicas têm sido estudadas e recomendadas para o controle da doença, dentre elas variedades resistentes, porta-enxertia, óleos minerais, a injeção de antibióticos, redução da fonte de inoculo e o controle do inseto vetor. A redução da fonte de inoculo tem sido um método comumente utilizado e exigido em legislação, mas para esse tipo de controle recomenda-se a retirada da planta doente, diminuindo assim os pomares de citros (HALBERT & MANJUNATH, 2004; ABDULLAH et al., 2009).

O controle do vetor é a técnica que vem sendo mais estudada atualmente (COCCO; HOY, 2008; AVERY et al., 2009; SANCHES et al., 2009). Dentre as principais técnicas de controle deste inseto está o controle químico por ser considerada uma ferramenta importante para reduzir a população do inseto, disseminação e transmissão dos patógenos (YAMAMOTO et al., 2009).

Contudo, o uso intensivo de produtos fitossanitários tem sérias restrições pela contaminação do meio ambiente e danos à saúde humana, além de poder afetar organismos não alvo, como insetos benéficos, animais silvestres e de criação. Assim, o controle

biológico se apresenta como uma ótima alternativa, permitindo reduzir os danos causados pelo inseto vetor, mantendo a viabilidade econômica do sistema produtivo, sem causar impactos negativos ao ambiente (SOUZA & REIS, 1986; PEREIRA et al., 2004).

Para o desenvolvimento de estratégias de manejo fitossanitário eficientes se faz necessária interações entre produtos químicos e biológicos, com a disponibilização de produtos compatíveis aos seus inimigos naturais, como os fungos entomopatogênicos, pois alguns produtos fitossanitários afetam o crescimento vegetativo, a viabilidade e a conidiogênese destes agentes, ou até alterar sua composição genética, acarretando modificações na sua virulência (BATISTA et al., 2003).

Diferentemente de outros agentes microbianos, os fungos são patógenos de largo espectro, capazes de colonizar diversas espécies de insetos e de causar com frequência, epizootias em condições naturais (ALVES et al., 2008). A grande variabilidade genética destes organismos determinam diferenças no grau de virulência do patógeno, interferindo na eficiência de controle de insetos, sendo assim, a seleção de isolados adaptados às condições climáticas e de cultivo em cada região torna-se necessária, para que se conheça a potencialidade dos diferentes materiais genéticos e se possa eleger os mais adequados para a utilização em programas de controle biológico (ALMEIDA et al., 1998; FERNANDES et al., 2006).

7. CONCLUSÕES

- Todos os isolados de fungos foram patogênicos à ninfas e adultos de *Diaphorina citri*;
- Os isolados IBCB 276 - *Beauveria bassiana*; IBCB 348 - *Metarhizium anisopliae*; IBCB 425 - *Metarhizium anisopliae*; IBCB 616 - *Lecanicillium lecanii*; IBCB 619 - *Lecanicillium lecanii*; IBCB 618 - *Lecanicillium* sp. foram os mais promissores para o controle de ninfas de *D. citri*;
- Os isolado IBCB 425 - *M. anisopliae* e IBCB 276 – *B. bassiana* apresentaram os menores tempos letais 50% (TL₅₀);
- O produto Lorsban 480 BR afetou negativamente todos os isolados analisados, sendo classificado como tóxico;
- Os isolados IBCB 616 - *L. lecanii* e IBCB 618 – *Lecanicillium* sp. foram aqueles com o maior número de produtos classificados como compatíveis;
- O isolado IBCB 348 - *M. anisopliae* foi o mais afetado negativamente pelos produtos avaliados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, T. L.; SKOKROLLAH, H.; SIJAM, K.; ABDULLAH, S. N. A. Control of Huanglongbing (HLB) disease with reference to its occurrence in Malaysia. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 17, p. 4007 - 4015, 2009.

AIUCHI, D., SAITO, Y., TONE, J., KANAZAWA, M., TANI, M., KOIKE, M. The effect of entomopathogenic *Lecanicillium* spp. (Hypocreales: Cordycipitaceae) on the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 47, p 351 – 357, 2012.

ALEMÁN, J.; BAÑOS, H.; RAVELO, J. *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: una combinación destructiva para la producción citrícola. **Revista Protección Vegetal**, v. 22, n. 3, p. 154-165, 2007.

ALMEIDA, J. E. M. et al. Controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) com iscas Termitrap impregnadas com inseticidas associados ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 4, p. 639 - 644, 1998.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C.; LEITE, L. G.; TRAMA, M.; SANO, A. H. Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 70, n. 1, p. 79 - 84, 2003.

ALVES, S. B. et al. Eficácia de *Beauveria bassiana*, imidacloprid e thiacloprid no controle de *Bemisia tabaci* e na incidência do BGMV. **Manejo Integrado de Pragas**, Costa Rica, n. 61, p. 31 – 36, 2001.

ALVES, S. B. et al. **Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina**. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba: FEALQ, p.21-48, 2008.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed) **Controle microbiano de insetos**. 2. Ed., Piracicaba: FEALQ, p. 289-381, 1998.

ALVES, S. B.; HUMBER, R.; LOPES, R. B.; TERSI, F.; PADULLA, F. L. Ocorrência da doença “salmão-da-ortézia” causada por um hifomiceto entomopatogênico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20, 2004, Gramado. Resumos ... Gramado: SEB, 2004.

ALVES, S. B.; JUNIOR, A. M.; VIEIRA, S. A. Ação tóxica de alguns defensivos sobre fungos entomopatogênicos. *Ecossistema, Espírito Santo do Pinhal*, v. 18, p. 161-170, 1993.

ALVES, S.B.; HADDAD, M.L.; FAION, M.; DE BAPTISTA, G.C.; ROSSI-ZALAF, L.S. Novo índice biológico para classificação da toxicidade de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. X Simpósio de Controle Biológico. Brasília, 2007.

ANGELO, I.C.; FERNANDES, E. K. K.; BAHIANSE, T. C.; PERINOTTO, W. M. S.; GÔLO, P. S.; MORAES, A. P. R.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Virulence of *Isaria* sp. and *Purpureocillium lilacinum* to *Rhipicephalus microplus* tick under laboratory conditions. **Parasitol Res** 111:1473 – 1480, 2012.

AUBERT, B. *Triozae rytreae* and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Montpellier, n.42, p. 149-62, 1987.

AUSIQUE, J. J. S. Desenvolvimento de estratégias para incorporação de fungos entomopatogênicos no manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) na cultura dos citros. 2014. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Univ. de São Paulo. Piracicaba, 2014.

AVERY, P. B.; HUNTER, W. B.; HALL, D. G.; JACKSON, M. A.; POWELL, C. A.; ROGERS, M. E. *Diphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) infection and dissemination of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) under laboratory conditions. **Florida Entomologist**, v.92, n.4, p.608 - 618, 2009.

AVERY, P.B., WEKESA, V.W., HUNTER, W.B., HALL, D.G., MCKENZIE, C.L., OSBORNE, L.S., POWELL, C.A., ROGERS, M.E. Effects of the fungus *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) on reduced feeding and mortality of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Biocontrol Sci. Tech.** n. 21, p. 1065–1078. 2011.

BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L. H.; BUSATO, L. A.; STUCHI, E. S. Damages caused by Huanglongbing on sweet orange yielded and quality in São Paulo. Proceedings os the Huanglongbing – **Greening Internacional Workshop**. Araraquara, SP: Fundecitrus. Resumo S17. 2006.

BATISTA FILHO, A. et al. Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 1, p. 61-67, 2003.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LANAS, C. Effect of thiametoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, v 30, n. 3, p.437-447, 2001.

BATISTA FILHO, A.; OLIVEIRA, L. J.; ALVES, S. B. Compatibilidade de inseticidas químicos com entomopatógenos. **Biológico**, v53, n.7, p.69-70, 1987.

BATISTA FILHO, A.; RAMIRO, Z. A.; ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; CINTRA, E. R. R.; LAMAS, C. Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. Arquivos do Instituto Biológico, v. 70, n. 1, p. 61-67, 2003.

BOINA, D. R.; ONAGBOLA, E. O.; SALYANI, M.; STELINSKI, L. L. Antifeedant and sublethaleffects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, v. 65, n.8, p.870 - 877, 2009.

BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J.C. **Principles of insect pathology**. Massachusetts: Kluwer Academic, 1998. 550p.

BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, p. 7-37, 2006.

BOVÉ, J. M.; CALAVAN, E. C.; CAPOOR, S. P.; CORTEZ, R.E.; SCHWARZ, R. E. Influence of temperature on symptoms of California stubborn, South Africa greening, India citrus decline, and Philippines leaf mottling diseases. In: WEATHERS, L. G.; COHEN, M. (Ed.). In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 6, 1974, Richmond. **Proceedings...**Richmond, 1974. p. 12-15.

BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. Phloem-and xylem-restricted plant pathogenic bacteria. **Plant Science**, Amsterdam, n.164, p. 423-438, 2002.

BRASIL - Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>>. Acesso em: 28/03/2016.

CASTIGLIONI, E.; VENDRAMIN, J. D.; ALVES, S. B. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con NimKol-L para el combate de *Heterotermes tenuis*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, v. 69, p. 38 - 44, 2003.

CATLING, H. D. Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease, with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. **FAO Plant Protection Bulletin**, Rome, n.18, p.8-15, 1970.

CAVALCANTI, R. S.; MOINO JR, A.; SOUZA, G. C.; ARNOSTI, A. Efeito de produtos fitossanitários fenpropatrina, imidaclopride, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, n.3, p. 17-22, 2002.

CDA – Coordenadoria de defesa agropecuária. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/gdsv/index.php?action=dadosCitriculturaPaulista>>. Acesso em: 28/03/2016.

CEPEA. 2011. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/citros>>. Acesso em: 28/03/2016.

CEPEA. 2014. PIB do Agronegócio de SP: cálculos detalhados confirmam prevalência de Serviços e Indústria Processadora no estado. Disponível em: <http://cepea.esalq.usp.br/comunicacao/PIB_SP_Cepea_Fiesp.pdf>. Acesso em: 30/03/2016.

COCCO, A.; HOY, M. A. Toxicity of organosilicone adjuvants and selected pesticides to the asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 91, n. 4, p. 610-620, 2008.

COLLETA-FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; de NEGRI, J. D.; POMPEU JR., J.; MACHADO, M. A. First Report of the Causal Agent of Huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”) in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, n.12, 1382, 2004.

CONCESCHI, M. R. **Potencialidade dos fungos entomopatogênicos *Isaria fumosorosea* e *Beauveria bassiana* para o controle de pragas dos citros**. 104 f. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2013.

COSTA, E.L.N. et al. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v.26, n.2, p.173-85, 2004.

CUTHBERTSON, A. G. S.; WALTERS, K; F. A. Pathogenicity of the Entomopathogenic Fungus, *Lecanicillium muscarium*, against the Sweetpotato Whitefly *Bemisia tabaci* under Laboratory and Glasshouse Conditions. **Mycopathologia**, v 160, p. 315 – 319. 2005

DEFESA AGROPECUÁRIA. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 12 de julho de 2013. Disponível em <<http://www.cda.sp.gov.br>> Acesso em 28/03/2016.

DEFESA AGROPECUÁRIA. Instrução normativa nº 53, de 16 de outubro de 2008. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br>> Acesso em 28/03/2016.

FARGUES, J.; RODRIGUES-RUEDA, D. Sensibilité dès larves de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) aux hyphomycètes entomopathogènes *Nomureae rileyi* et *Paecilomyces fumosoroseus*. *Entomophaga*, v. 25, p. 43-54, 1980.

FERNANDES, E. K. K. et al. Study on morphology, pathogenicity, and genetic variability of *Beauveria bassiana* isolates obtained from *Boophilus microplus* tick. **Parasitology Research**, v. 98, n. 4, p. 324-332, 2006.

FIEDLER Z.; SOSNOWSKA, D. Nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insects and mite pests. **BioControl**, v. 52, n. 4, p. 547–558, 2007.

FNP CONSULTORIA & AGROCOMÉRCIO. Agriannual 2008: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, citros. 2008.

FRANCESCHINI, M. et al. Biotecnologia aplicada ao controle biológico. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.23, p.32-37, 2001.

FUNDECITRUS. 2007. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br>>. Acesso em: 29/03/2016.

FUNDECITRUS. 2012. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br>>. Acesso em: 29/03/2016.

GALLEGO-VELÁSQUEZ, J.; CARDONA-BUSTOS, N. L.; RESTREPO-BETANCUR, F. Compatibilidad del hongo entomopatógenos *Purpureocillium* sp. cepa UdeA0106 con biocontroladores y productos fitosanitarios utilizados en cultivos de crisântemo. **Actu Biol**, vol.36, n. 101, Medellín, 2014.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GARAY, L.C. Manual tecnico de identificacion a campo del huanglongbing de los citricos y el insecto vector *Diaphorina citri*. Entre Ríos: **INTA**, Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas, 2009. 20 p.

GARCIA, M.O. Utilização de fungos entomopatogênicos para o controle de *Orthezia praelonga* (Sternorrhyncha: Ortheziidae). 2004. 57p. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

GARNIER, M.; JAGOUÉIX-EVEILLARD, S.; CRONJE, P. R.; ROUX, H.F.; BOVÉ, J. M. Genomic characterization of a Liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, *Calodendrum capense*, in the Western Cape Province of South Africa. Proposal of ‘*Candidatus Liberibacter africanus* subsp. *capensis*’. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, n.50, p. 2119-25, 2000.

GAZZONI, D.L. Pesquisa em seletividade de inseticidas no Brasil: uma abordagem conceitual e metodológica. In: Anais do 4º Simpósio de Controle biológico, Gramado, 1994.

GÓMEZ-TORRES, M. L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae)**, 2009. 138 f. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GOMÉZ-TORRES, M. L.; NAVA, D. E.; GRAVENA, S.; COSTA, V. A.; PARRA, J. R. P. Registro de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em São Paulo, Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 81, n. 1, p. 112-117, 2006a.

GÓMEZ-TORRES, M. L.; NAVA, D. E.; PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Porcentagem de parasitismo sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) e detecção de Wolbachia em populações de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, XXI, 2006, Recife. **Anais...** Recife, 2006b.

GRAÇA, J. V. Citrus greening disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, n.29, p.109-36, 1991.

GRAJEK, W. Sporogenesis of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* in solid-state cultures. **Folia Microbiologica**, Prague, v.39, n.1, p.29-32, 1994.

GUÉDEZ, C. et al. Control biológico: uma herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. **Academia**, Venezuela, v. 7, n. 13, p. 50 – 74, 2008.

HALBERT, S. E.; MANJUNATH, K. L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 87, n. 3, p. 330-353, 2004.

HALL, D. G., HENTZ, M. G., • MEYER, J. M., KRISS, A. B., GOTTWALD, T. R., BOUCIAS, D. G. Observations on the entomopathogenic fungus *Hirsutella citriformis* attacking adult *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in a managed citrus grove.

BioControl. v. 57. p. 663–675. 2012.

HALL, R. A. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: BURGESS, H. D. (Ed.) **Microbial control of pests and plant diseases 1970 - 1980**. London: Academic Press, p.483–498, 1981.

HORTON, D. L.; CARNER, G. R.; TURNIPSEED, S.G. Pesticides inhibition of entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* in soybeans. **Environmental Entomology**, Lanham, v.9, n.3, p.304-308, 1980.

HOY, M., RAGHUWINDER, S., ROGERS, M. Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomol.** n. 93, p. 24–32. 2010.

HUANG, C. H.; LIAW, C. F.; CHANG, L.; LAN, T. Incidence and spread of citrus likubin in relation to the population fluctuation of *Diaphorina citri*. **Plant Protection Bulletin**, Taiwan, n.32, p. 167-176, 1990.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 29/03/2016.

JAGOUEIX, S.; BOVÉ, J.M.; GARNIER, M. The Phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the *Proteobacteria*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Giessen, n.44, p.379-386, 1994.

JIMENEZ, J.; ACOSTA, N.; FERNANDEZ, R. Efecto de insecticidas y fungicidas sobre la actividad biológica de preparaciones de *Bacillus thuringiensis*. **Cient. Tec. Agric. Protección de plantas**. V. 12, n. 1, 1988.

KHALIL, S.K.; SHAH, M.A.; NAEEM, M. Laboratory studies on the compatibility of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* with certain pesticides. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 13, p. 329–334, 1985.

KIM, S.I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v.39, n.3, p.293-303, 2003.

KLINGEN, I.; HAUKELAND, S. The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes. En: EILENBERG, J, HOKKANEN, H. M. T. (Ed) **An ecological and societal approach to biological control**. Dordrecht, Springer, p. 145-211, 2006.

KNIGHTEN, C.; REDDING, J.; FEIBER, D.; COMPTON, L. 2005. U.S. **Department of Agriculture and Florida Department of Agriculture Confirm Detection of Citrus Greening**. Department Press Release. Disponível em: <http://doacs.fl.us/press/2005/0902205_2.html>. Acessado em: 09 fev. 2005.

LEGER, R. J. S. Biology and mechanisms of insectcuticle invasion by deuteromycete fungal pathogens. In.: THOMPSON; S. N.; FERERICI, B. A. Parasites and pathogens of insects. London: Pathogens Acad. Press, 1993. v. 2, p. 211-227.

LOUREIRO, E. S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 263-267, 2002.

LOUREIRO, E.S. **Seleção e avaliação de campo de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae)**. 91f. Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2004.

MAPA - Ministério da agricultura pecuária e abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acessado em: 23/03/2016.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1675-1680, nov-dez 2004.

MASCARIN, G. M. et al. The virulence of entomopathogenic fungi against *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) and their conidial production using solid substrate fermentation. **Biological Control**, v. 66, p. 209 - 218, 2013.

MATOUSKOVA, O., CHALUPA, J., CIGLER, M., HRUSKA, K., STAT Plus. Manual, 1st Edition. Veterinary Research Institute, Brno, 168 pp. (in Czech), 1992.

MCCOY, C.W.; SAMSON, R.A.; BOUCIAS, D. G. **Entomogenous fungi**. In: IGNOFFO, C.M.; MANDAVA, N.B.(Ed.). Handbook of natural pesticides. Microbial insecticides, part A: entomogenous protozoa and fungi. Boca Raton: CRC Press, v.5, p.151-236, 1998.

McFARLAND, C. D.; HOY, M. A. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its twoparasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under diferente relative humidities and temperature regimes. **Florida Entomologist**, Florida, v.84, n.2, p.227-233, 2001

MEAD, F. W. 2002. Feature names. Disponível em: <<http://creatures.ifas.ufl.edu/citrus>>. Acessado em: 17/01/2016.

MENEZES, E.L.A. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Projeções do Agronegócio Brasil 2014/15 a 2024/25. Projeções de Longo Prazo. 6ª Edição, Brasília, 133p, 2015.

MOLINA, J. H. G. **Efeito do controle microbiano em insetos sugadores em três sistemas de manejo de pragas de citros**. 2007. 107 f. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Univ. de São Paulo. Piracicaba, 2007.

NAVA, D. E.; TORRES, M. L. G.; RODRIGUES, M. D. L.; BENTO, J. M. S.; PARRA, J. R. P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9-10, p. 709-715, 2007.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F.; ROSSI, R. M.; MELO, P. A. O. Metodologias de análise de cadeias agroindustriais: uma aplicação para citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 468-473, 2004.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. 71 f. 2010.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JR. A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 263-268, 2001.

ORDUNO-CRUZ, N. A.W. GUZMAN-FRANCO, E. RODRIGUEZ-LEYVA, R. ALATORRE-ROSAS, H. GONZALEZ-HERNANDEZ, G. MORA-AGUILERA. In vivo selection of entomopathogenic fungal isolates for control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Biological Control**. n. 90. p. 1–5. 2015.

PADULA, L. F. L. **Estudo de fungos entomopatogênicos para o controle de ninfas do psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae)**. 2007. 91 f. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Univ. de São Paulo. Piracicaba, 2007.

PADULLA, L. F. L.; ALVES, S. B.; PAULI, G.; MARINHEIRO, D. Q. Controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) com fungos entomopatogênicos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife. **Anais...** Recife, 2005, p. 94.

PAIVA, P. E. B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo.** 2009. 64 f. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Univ. de São Paulo. Piracicaba, 2009.

PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; TORRES, M. L. G., NAVA, D. E., PAIVA, P. E. B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research& Technology**, v. 31, n. 1, p. 37-51. Cordeirópolis, 2010.

PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N.; PINTO, A. S. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos dos citros.** Piracicaba, 2003, 140 p.

PASSOS et al. Efeitos de isolados do fungo *Isaria* sp. (Persoon) sobre o cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n.3, p. 232 – 237, 2014.

PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Biologia e Exigências Térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Criados em Ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 231-236, 2004.

PINTO, A. P. F et al. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* ao psílídeo *Diaphorina citri* e compatibilidade do fungo com produtos fitossanitários. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n.12, p. 1673 – 1680, 2012.

PIRES, A. P. D. Diversidade genética e caracterização molecular em linhagens de *Beauveria bassiana*. 74f. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

POTRICH M, NEVES, P. M. O. J.; ALVES, L. F. A.; PIZZATTO, M.; SILVA, E. R. L. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**. v. 32 (Suppl 1): p. 1783–1792. 2011.

PUTZKE, J. & PUTZKE, M.T.L. Os reinos dos fungos. Vol. 2. EDUNISC, Santa Cruz do Sul. 829 pg. 2002.

QURESHI, J. A.; ROGERS, M. E.; HALL, D. G.; STANSLY, P. A. Incidence of Invasive *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and Its Introduced Parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Florida Citrus. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 1, p. 247-256, 2009.

QURESHI, J. A.; STANSLY, P. A. Rate, placement and timing of aldicarb applications to control Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), in oranges **Pest Management Science**, v. 64, p. 1159-1169, 2008.

RAMOS, E. Q. et al. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, Costa Rica, n. 73, p. 21-28, 2004.

RANGEL, D. E. N. Virulência de *Aphanocladium album* e *Verticillium lecanii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) para o percevejo-de-renda da seringueira, *Leptopharsa heveae* (Hemíptera: Tngidae) e comportamento de *V. lecanii* em meio de cultura. 2000. 70f.

ROHDE, C. et al. Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n.2, p. 231 -240, 2006.

RONDELLI, V. M. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* potenciais para o controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 391 – 396, 2012.

SALVO, S.; SUZUKI, M.; FIORELLI, J. Controle químico de *Diaphorina citri*, vetor de Huanglongbing com diferentes inseticidas aplicados por diferentes métodos de aplicação. In: **Proceedings of the Huanglongbing – greening International Workshop**, 1., Ribeirão Preto: Fundecitrus, 2006. P. 111.

SAMŠINÁKOVÁ, A. Growth and sporulation of submerged cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 8, p. 395 – 400. 1966.

SANCHES, A. L.; FELIPPE, M. R.; CARMO, A. U.; RUGNO, G. R.; YAMAMOTO, P. T. Eficiência de inseticidas sistêmicos, aplicados em mudas cítricas, em pré-plantio, no controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Sociedade Entomológica do Brasil**. 2009.

SANTOS, C. M. A. toxicidade dos agrotóxicos usados na lavoura de soja na cidade de Catalão - GO, e seus impactos no ambiente – um estudo de caso. **Revista Acadêmica do Instituto de Ciências Jurídicas**, v. 1, n. 1, p. 58 – 76, 2014.

SCHUMACHER, V.; POEHLING, H. M. In vitro effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. **Fungal Biol**, v. 116, p. 121–132, 2012.

SILVA, F. de S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional ASSISTAT para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p.71-78, 2002.

SILVA, R. Z. da.; NEVES, P. M. de O. J. SANTORO, P. H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 305 – 312, 2005.

SKELLEY, L. H.; HOY, M. A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, Amsterdam, n.29, p.14-23, 2004.

SMILANICK, J.M., F.G. ZALOM & L.E. EHLER. Effect of methamidophos residue on the pentatomid egg parasitoids *Trissolcus basal* and *T. utahensis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Biol. Control* 6: 193-201. 1996.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. Controle da traça-do-tomateiro em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 343-354, 1986.

STARK, J. D. AND J. E. BANKS. “Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods.” **Annual Review of Entomology** 48: 505–519, 2003.

TAMAI, M. A. et al. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.77-84, 2002.

TANZINI, M. R.; ALVES, S. B.; SETTEN, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 65-69, 2002.

TEIXEIRA, D. C.; AYRES, J. First Report of a Huanglongbing-Like Disease of Citrus in Sao Paulo State, Brazil and Association of a New Liberibacter Species, “*Candidatus Liberibacter americanus*”, with the Disease. **Plant Disease**, v. 89, n.1, p. 107, 2005a.

TEIXEIRA, D.C.; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANED, J.L.; COSTA, P.I.; AYRES, A.J.; BOVÉ, J. ‘*Candidatus Liberibacter americanus*’, associated with citrus huanglongbing (greening disease in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, n.55, p.1857-1862, 2005b.

TOLLEY, I. S. The relation of nurse production with orchard planning and management. In: AUBERT, B.; TONTYAPOM, S.; BUANGSUWON, D. (Ed.). In: REHABILITATION OF CITRUS INDUSTRY IN THE ASIA PACIFIC REGION, 1990, Chiang Mai. **Proceedings...** Chiang Mai, 1990, p.77-82.

TRAMA, M.; ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C. Compatibilidade dos inseticidas e fungicidas no controle de pragas do cafeeiro aos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Verticillium lecanii*. Arquivos do Instituto Biológico, v. 68, 2001.

TSAI, J. H.; LIU, Y. H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on Four Hosts Plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1721-1725, 2000.

VITAL, R. C. de J. et al. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). In: Documentos 275, VI Seminário Jovens Talentos, 2012, Goiás. **Anais...**Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012, p. 61.

WAKIL, W. et al. Testing *Paecilomyces lilacinus*, diatomaceous earth and *Azadirachta indica* alone and in combination against cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) (Insecta: Homoptera: Aphididae). **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 4, p. 821–828, 2012.

WOOLER, A.; PADGHAM, D.; ARAFAT, A. Outbreaks and new records. Saudi Arabia. *Diaphorina citri* on citrus. **FAO Plant Protection Bulletin**, Rome, n.22, p.93-94, 1974.

WRAIGHT, S. P.; BRADLEY, C. A. Production, formulation and application technologies for use of entomopathogenic fungi to control field crop pests. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5., 1996, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Universidade Federal de Lavras, 1996. P. 170-177.

WRIGHT, M.S.; CONNICK, W. J.; JACKSON, M. A. Use of *Paecilomyces* spp. as pathogenic agents against subterranean termites. U.S. Patent 20030095951, 2003.

XIE, P.; SU, C.; LIN, Z. A preliminary study on the parasite fungus of citrus psyllid *Cephalosporium lecanii* Zimm. In: FAO-UNDP GREENING WORKSHOP, 1988, Lipa. **Proceedings...** Lipa, 1988. p.18-22.

XU, C. F.; XIA, Y. H.; LI, K. B.; KE, C. Further study on the transmission of Citrus Huanglungbing by a psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 10., 1988, Riverside. **Proceedings...**Riverside, 1988. p.178-181.

YAMAMOTO, P. T. Controle de insetos vetores de bactérias causadoras de doenças em citros. In.: YAMAMOTO, P. T. **Manejo Integrado de Pragas dos Citros**. Piracicaba: FUNDECITRUS, 2009, cap. 9.

YAMAMOTO, P. T.; BASSANEZI, R.B. Seletividade de produtos fitossanitários aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v.24, n.2, p.353-382, 2003.

YAMAMOTO, P. T.; FELIPPE, M. R.; SANCHES, A. L.; COELHO, J. H. C.; GARIM, L. F.; XIMENES, N. L. Eficácia de Inseticidas para o Manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em Citros. **BioAssay**, v. 4, n. 4, 2009.

YAMAMOTO, P. T.; PAIVA, P. E. B.; GRAVENA, S. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região norte do estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.1, p.165-170, 2001.

YAMAMOTO, P.T. **Estratégias de controle químico de *Diaphorina citri***. In: SIMPÓSIO HUANGLONGBING (HLB, EX-GREENING) NO ESTADO DE SÃO PAULO, Semana da Citricultura, 28., Centro APTA Citros 'Sylvio Moreira' do IAC, 2006, Cordeirópolis/SP.

YANG, Y.; HUANG, M.; BEATTIE, G. A. C.; XIA, Y.; OUYANG, G.; XIONG, J. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: A status report for China. **International Journal of Pest Management**, London, v.52, n.4, p.343- 352, 2006.

YASUDA, K.; KAWAMURA, F.; OISHI, T. Location and preference of adult Asian psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on Chinese box orange jasmine, *Murraya exotica* L. and flat lemon, *Citrus depressa*. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, n.49, p.146-149, 2005.

ZARE R., GAMS W. A revision of *Verticillium* sect. Prostata IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. **Nova Hedwigia**, v. 73, p. 1-50, 2001.

ZIMMERMANN G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. **Biocontrol Science and Technology**, v. 18, n. 9, p. 865 – 901, 2008.

ZULIAN, A.; DÖRR, A. C.; ALMEIDA, S. C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 11, n. 11. P. 2290 – 2306, 2013.