

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**SUSCEPTIBILIDADE DE *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B
(GENN.) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS**

David Jossue López Espinosa

Engenheiro em Desenvolvimento Comunitário

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**SUSCEPTIBILIDADE DE *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B
(GENN.) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS**

David Jossue López Espinosa

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, (Entomologia Agrícola).

2016

L864s López Espinosa, David Jossue
Susceptibilidade de *Bemisia tabaci* biótipo B. (Genn.) (hemiptera:
aleyroididae) a fungos entomopatogênicos / David Jossue López
Espinosa. -- Jaboticabal, 2016
ii, 34 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Ricardo Antonio Polanczyk
Banca examinadora: Luis Garrigós Leite, Arlindo Leal Boiça Junior
Bibliografia

1. Controle microbiano. 2. Patogenicidade. 3. Virulência. 4. Mosca-
branca. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 595.7:632.937

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

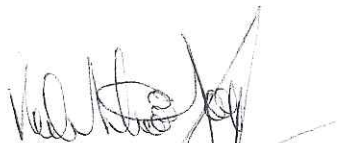
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: SUSCEPTIBILIDADE DE *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B (GENN.)
(HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A FUNGOS
ENTOMOPATOLOGÊNICOS

AUTOR: DAVID JOSSUE LOPEZ ESPINOSA

ORIENTADOR: RICARDO ANTONIO POLANCZYK


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA
(ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisador Dr. LUIS GARRIGÓS LEITE
Laboratório de Controle Biológico / Instituto Biológico / Campinas/SP



Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 28 de julho de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

David Jossue López Espinosa - Engenheiro em desenvolvimento comunitário (2012), em março de 2014 iniciou o mestrado na FCAV/UNESP (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho). Tem experiência nas áreas de Controle Biológico de Pragas Agrícolas e Ecologia de Insetos, com ênfase no controle microbiano a base fungos entomopatogênicos e *Bacillus thuringiensis*; Dinâmica populacional, criação massal e inimigos naturais.

“Somos hoje o que decidimos ontem. Seremos amanhã o que decidimos hoje”

Emmanuel Espinosa

DEDICO

.... À Deus Quem me criou, e colocou a ciência e inteligência em mim;

À meus pais: Deonico López Espinosa e Herminia Espinosa Moreno;

À minhas irmãs: Laura López Espinosa e Arali López Espinosa.

À meus professores de Graduação: Alejandro Flores e Silvia Islas.

Que acreditaram em mim e me impulsaram a voar mais alto.

AGRADECIMENTOS

-Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk pela orientação, amizade e contribuição a minha formação profissional.

-As pessoas que ao longo desta etapa fizeram deste trabalho mais harmonioso, as quais, gostaria de honrar: Amigos do laboratório de Controle Microbiano de Insetos praga (Rogerio Teixeira, Kelly Cristina, Laís Moreira, Igor Sena, Rosangela Inui, e Giovani Smaniotto).

-Aos amigos do Departamento de Fitossanidade: Oniel Jeremías, Diego Fraga, Leandro Aparecido, Danilo Henrique, Ezequias Teófilo, Mariana Nardin, e Alessandra Karina.

-Aos Professores do Departamento de Fitossanidade: Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes, Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli.

-À Suzana Targanski Sajovic, a quem admiro muito e estou agradecido a Deus por ter posto no meu caminho uma pessoa tão especial.

- E aos meus amigos incondicionais: Ricardo Alexis Velazquez (Mexicano), Rogerio Teixeira (Brasileiro), Martin San Gabriel (Mexicano), Juliana Barroso (Brasileira), Armin Romero (Mexicano), Ricardo Rodriguez (Mexicano), e Manuel Henao (Colombiano).

A todos estes, nunca vou me cansar de agradecer por sua valiosa amizade incondicional.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.2 Origem e Distribuição geográfica	3
2.3 Hospedeiros	3
2.4. Biótipos de <i>Bemisia tabaci</i>	3
2.4 Descrição morfológica e aspectos biológicos.....	4
2.5 Danos e importância econômica	7
2.6 Manejo de <i>B. tabaci</i>	8
2.7 Controle Microbiano	9
2.8.1 Histórico e Aspectos Gerais.....	9
2.8.2 Modo de Ação.....	12
2.8.3 Produtos Comerciais.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Criação de <i>B. tabaci</i> biótipo B.....	16
3.2. Isolados de fungos entomopatogênicos.....	17
3.3. Patogenicidade dos isolados contra ovos e ninfas de <i>B. tabaci</i>	17
3.4 Estimativa da CL ₅₀ dos isolados de fungos entomopatogênicos.....	19
4. RESULTADOS	20
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÃO	25
7. REFERÊNCIAS	25

SUSCEPTIBILIDADE DE *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B (GENN.) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

RESUMO - A susceptibilidade de *Bemisia tabaci* biótipo B (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) aos isolados de *Beauveria bassiana* (IBCB18, IBCB35, IBCB66 e JAB07), *Lecanicillium muscarium* (LCMAP3790) e *Metarhizium rileyi* (NOM1950) foi avaliada em testes de patogenicidade e virulência. A concentração discriminatória de 10^8 conídios/ mL⁻¹ foi utilizada para bioensaios com ovos e ninfas de terceiro ínstar utilizando folhas de feijão como substrato. Para cada tratamento foram utilizados 60 ovos e 60 ninfas, distribuídos em três repetições. A testemunha consistiu de água destilada esterilizada + Tween® 80 (0,05%). Para estimar a virulência dos isolados, foram realizados bioensaios de estimativa da concentração letal (CL₅₀). As suspensões dos isolados ($1,0 \times 10^3$, $1,0 \times 10^4$, $1,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^6$, $1,0 \times 10^7$ e $1,0 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹) foram pulverizadas sobre ovos e ninfas de terceiro ínstar e avaliou-se o número de ovos e ninfas com mortalidade confirmada pelo fungo. Todos os isolados testados foram patogênicos para ovos e ninfas de *B. tabaci*. A mortalidade de ninfas e de ovos variou de 63,3 a 100,0 e 32,1 a 95,0%, respectivamente. Os isolados JAB07 e IBCB18 de *B. bassiana* e o LCMAP3790 de *L. muscarium* foram os melhores para o controle de ninfas e ovos de *B. tabaci*, sendo que o isolado JAB07 foi o mais virulento para ninfas e ovos, com CL₅₀ estimada de 0,006 e $0,012 \times 10^3$ conídios/mL⁻¹ para ovos e ninfas de terceiro ínstar, respectivamente, sendo este o isolado mais indicado para futuros testes a em casa de vegetação e campo para o controle de *B. tabaci*.

Palavras-chave: Controle microbiano, patogenicidade, virulência, mosca-branca.

**SUSCEPTIBILITY OF *Bemisia tabaci* BIOTYPE B (GENN.) (HEMIPTERA:
ALEYRODIDAE) TO ENTOMOPATHOGENIC FUNGI**

ABSTRACT - The susceptibility of *Bemisia tabaci* biotype B (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) to isolates of *Beauveria bassiana* (IBCB18, IBCB35, IBCB66 and JAB07) *Lecanicillium muscarium* (LCMAP3790) and *Metarhizium rileyi* (NOM1950) was evaluated using pathogenicity and virulence tests. The $1,0 \times 10^8$ conidia/mL⁻¹ discriminatory concentration was used for bioassays with 60 eggs and 3rd instar nymphs in bean leaves as a substrate. For each treatment was used 60 eggs and nymphs distributed in three replicates. The control treatment consisted of distilled water + Tween 80 (0.05%). To estimate the virulence of strains, lethal concentration (LC₅₀) bioassays were performed. Isolates suspensions ($1,0 \times 10^3$, $1,0 \times 10^4$, $1,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^6$, $1,0 \times 10^7$ and $1,0 \times 10^8$ conidia/ml⁻¹) were sprayed on eggs and 3rd instar nymphs and the number of eggs and nymphs with mortality confirmed by the fungus was evaluated. All isolates tested were pathogenic for *B. tabaci* eggs and nymphs. The mortality rate of nymphs and eggs ranged from 63.3 to 100.0 and 32.1 to 95.0%, respectively. JAB07 and IBCB18 from *B. bassiana* and LCMAP3790 *L. muscarium* isolated were the best for the control of *B. tabaci* nymphs and eggs, JAB07 was the isolate most virulent for nymphs and eggs, with LC₅₀ estimated 0.006 and 0.012×10^3 conidia/mL⁻¹ estimated for eggs and 3rd instar nymphs, respectively, this being isolated most suitable for future field trials for control of *B. tabaci*.

Key words: Microbial control, pathogenicity, virulence, whitefl

1. INTRODUÇÃO

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), é uma das 100 pragas mais importantes do mundo, pois tem como hospedeiros mais de 600 espécies vegetais cultivadas e silvestres (OLIVEIRA; HENNEBERYRRY; ANDERSON, 2001). No Brasil, esta espécie está distribuída em todo o território, causando perdas econômicas estimadas em 2 bilhões de reais por ano em culturas de grande interesse econômico, tais como, feijão, soja, algodão e tomate (FONTES; COLOMBO; LORENÇÃO 2012; OLIVEIRA et al., 2013). Tanto os adultos como as ninfas de *B. tabaci* causam danos diretos através da sucção da seiva da planta (BYRNE; MILLER, 1990) e, indiretos, pela transmissão de mais de 100 vírus (BROWN, 2000; SINISTERRA et al., 2005; BARBOZA et al., 2011).

O controle desta praga é realizado basicamente através da utilização de inseticidas químicos de elevada toxicidade e alta frequência de aplicação. Estes fatores influenciam na pressão de seleção, acarretando em maior número de relatos de resistência, além de problemas relacionados à contaminação ambiental e presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos, desequilíbrio da biodiversidade e do agroecossistema, (YUAN et al., 2012; BASIT et al., 2013; HOROWITZ; ISHAAYA, 2014). Esta espécie é a terceira em relatos de resistência a inseticidas químicos no mundo (436 produtos comerciais) (WYCKHUYS et al., 2013). Desta forma, a problemática associada à mosca-branca tem alcançado níveis alarmantes frente a diversas questões mundiais propostas nos últimos anos (QUINTERO et al. 2001).

Para minimizar este problema, a integração de outras táticas de controle se fazem necessário para a redução populacional de *B. tabaci* biótipo B nos diferentes cultivos agrícolas. Uma alternativa viável que vem sendo utilizada é a utilização de fungos entomopatogênicos dentro dos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), tais como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown e Smith e *Lecanicillium muscarium* (TIAN et al., 2015). Embora esses fungos tenham alta eficiência no controle de outras pragas agrícolas no campo (SHAH; PELL, 2003), a eficiência de controle da mosca-branca ainda é considerada

baixa (FARIA; WRAIGHT, 2007; GOETTEL et al., 2008; CUTHBERTSON et al., 2009).

Devido à alta variabilidade genética dos fungos entomopatogênicos (ALVES, 1998), se faz necessária a busca por isolados que sejam mais virulentos, como por exemplo *Metarhizium rileyi*, que é frequentemente relatado na literatura como um agente de controle de lepidópteros pragas (RIZZO; LA ROSSA, 1994; DEVI et al., 2003; SRISUKCHAYAKUL; WIWAT; PANTUWATANA, 2005; MASCARIN; PAULI, 2010). No entanto, não há trabalhos avaliando o seu potencial de controle sobre *B. tabaci*, além disso, ainda são poucos os estudos com outras espécies e isolados de fungos entomopatogênicos voltadas à redução populacional da referida praga. O objetivo deste trabalho foi avaliar, em condições laboratoriais, a eficiência de isolados de diferentes espécies de fungos entomopatogênicos à ovos e ninfas de *B. tabaci* biótipo B.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae)

Com o aumento do trânsito de vegetais devido à globalização da economia, espécies de insetos cuja importância agrícola era reduzida ou esporádica tornaram-se importantes. Um exemplo disso, é a espécie cosmopolita *Bemisia tabaci*, que tem origem no oriente médio (OLIVEIRA et al., 2001) e atualmente encontra-se presente em todos os continentes, tanto em regiões temperadas quanto tropicais. Nas últimas décadas, *B. tabaci* passou de praga secundária à primária, ocasionando grande impacto pelos danos diretos (sucção de seiva) e indireto, através da transmissão de vírus a várias culturas de importância econômica, tais como, soja e feijão (VAZQUEZ et al., 2007).

A mudança de status está estritamente relacionada ao aumento da monocultura na maioria das espécies cultivadas, às condições dos sistemas agrícolas modernos, ao aumento da utilização de agrotóxicos, e principalmente, à sua grande facilidade de adaptação a diversos hospedeiros (MORALES et al., 2006). Além das espécies de interesse agrícola, as plantas daninhas também podem ser hospedeiras de *B. tabaci*, podendo servir como abrigo para

esta praga, possibilitando a sobrevivência dos insetos na entressafra, sem a interrupção no ciclo de vida (CAMPOS et al., 2009).

2.2 Origem e Distribuição geográfica

Esta praga encontra-se distribuída em todo o mundo, desde ambientes tropicais até ambientes subtropicais (MARTIN; MIFSUD; RAPISARDA, 2000). Alguns pesquisadores sugerem que *B. tabaci* pode ser originária de África tropical, local onde se dispersou para Europa e Ásia; e posteriormente introduzida as regiões Neotropicais, devido ao trânsito de plantas entre os países (CAMPBELL CAMPBELL; STEPHEN-CAMPBELL; GILL, 1995). No entanto, outros pesquisadores sugerem que esta espécie pode ser nativa da Índia ou Paquistão, locais com a maior diversidade de espécies de seus inimigos naturais (MORALES, 2001).

Esta praga é conhecida vulgarmente como mosca-branca do algodão, do tabaco ou da batata. Sua primeira descrição foi feita na Grécia, com o nome de *Aleyrodes tabaci* (GENNADIUS, 1889). A partir de 1936 foi descrita como *Bemisia tabaci* e registrada no Brasil pela primeira vez em 1928 (PERRING, 2001).

2.3 Hospedeiros

A mosca-branca é uma das 100 pragas mais importantes do mundo, tendo sido registrada em mais de 600 espécies de plantas hospedeiras, incluindo plantas olerícolas, ornamentais, culturas agrícolas de interesse agrônômico e espécies selvagens, sendo estas pertencentes a mais de 74 famílias botânicas, como Brassicaceae, Cucurbitaceae, Solanaceae, Leguminosae, entre outras (OLIVEIRA et al., 2001).

2.4. Biótipos de *Bemisia tabaci*

A existência de diferentes biótipos de *B. tabaci* foi proposta na década de 1950, a partir da descoberta de populações morfologicamente semelhantes, mas genética e biologicamente diferentes, com hospedeiros distintos e

diferente capacidade de transmissão de vírus (MANSARAY; SUNDUFU, 2009). *Bemisia tabaci* representa um complexo de 41 populações diferentes, separadas por técnicas de caracterização molecular (SILVA et al., 2009). Dentre os biótipos conhecidos, o biótipo B é considerado o mais nocivo, porque tem ampla gama de hospedeiros e alta fecundidade, além da capacidade de dispersão a longas distâncias (UEDA; BROWN, 2006).

2.4 Descrição morfológica e aspectos biológicos

A mosca-branca pertence a ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha, família Aleyrodidae e subfamília Aleyrodinae. É um inseto pequeno que apresenta metamorfose incompleta, passando por ovo, ninfa e adulto; sendo que a fase de ninfa é subdividida em ninfa I, ninfa II, ninfa III e ninfa IV, também chamada esta última de “pupa” ou “pseudopupa” (GALLO et al., 2002). A reprodução é sexual ou partenogenética, sendo que na reprodução sexual, a prole é constituída por machos e fêmeas e na partenogenética apenas por machos, dita partenogênese arrenótoca (LIU; STANSLY, 2000).

Os ovos são colocados preferencialmente na face abaxial da folha, ficando presos por um pedicelo curto, inserido na abertura dos estômatos da folha em uma fenda aberta pela fêmea com seu ovipositor (VENDRAMIM; SOUZA; ONGARELLI, 2009). Dessa forma, são dificilmente visíveis a olho nú e facilmente confundidos com grânulos de poeira ou tricomas das folhas. À forma de oviposição pode ser feita isoladamente, em grupos irregulares, ocasionalmente em semicírculo e até mesmo em círculos (LIMA; DOS SANTOS; LARA, 2001). Uma substância “glue-like” colocada na base do pedicelo cimenta os ovos no local (Figura 1A). O pedicelo, por sua vez, atua como condutor de água da folha para o ovo protegendo-o da desidratação (BUCKNER et al., 2002). Os ovos geralmente medem de 0,2 a 0,3 mm e demoram de 5 a 15 dias para eclodirem, dependendo das condições de clima e da planta hospedeira (VILLAS BÔAS; FRANÇA; MACEDO, 2002). Podem estar cobertos com uma substância cerosa branca, possuem textura lisa e formato ovalado, com a parte superior terminada em ponta, e a inferior arredondada (Figura 1A). Quanto à coloração são inicialmente brancos

esverdeados, à medida que amadurecem tornam-se amarelos e próximos da eclosão das ninfas, assumem cor de café claro (VENDRAMIM; SOUZA; ONGARELLI, 2009).

As ninfas, são de formato elíptico, ventralmente planas e dorsalmente convexas em seu primeiro instar (Figura 1B), apresentam coloração amarela a amarela pálida e são translúcidas (BUCKNER et al., 2002). No primeiro instar, a ninfa é chamada de “crawler”, porque é móvel, arrastando-se muito lentamente à curta distância, por algumas horas ou até por alguns dias, testando o tecido vegetal para escolher o melhor local para introduzir o estilete e fixar-se, dando início à alimentação por meio de sucção de seiva do floema (GALLO et al., 2002).

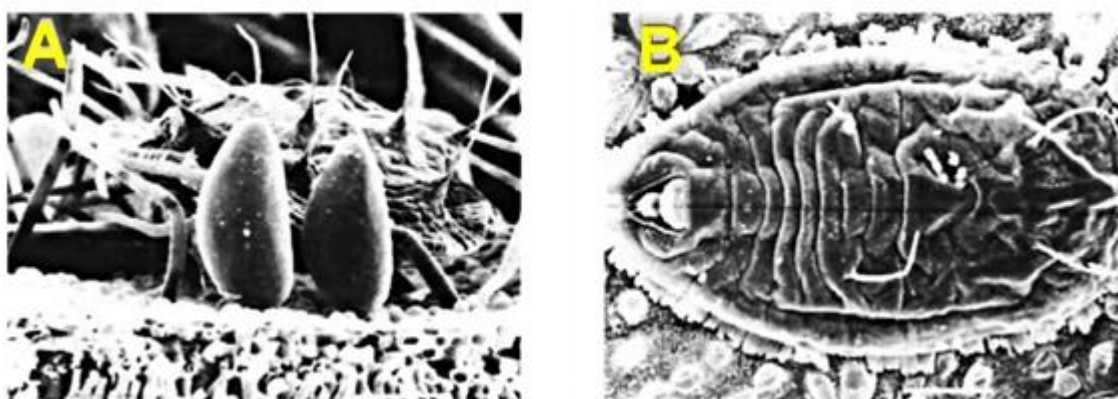


Figura 1. Ovos (A) e ninfas de *B. tabaci* (B) (LIMA; DOS SANTOS; LARA, 2001).

As ninfas de segundo instar têm forma ovalada, cor branca esverdeada e duração de quatro dias, em média. As ninfas de terceiro instar são morfologicamente similares às de segundo instar e esta fase dura em média 5,5 dias (Figura 2). O quarto e último instar apresenta holometabolía, uma vez que possui três formas distintas. No início a ninfa é achatada e translúcida e se alimenta; a seguir torna-se branca e opaca e é mais larga e, por último, exibe coloração amarela e olhos vermelhos bem visíveis e a forma do corpo do adulto pode ser percebida através do tegumento da ninfa. Nessa fase também é denominada como “pupa” e não se alimenta (LIMA; DOS SANTOS; LARA, 2001).

Para emergência do adulto ocorre o rompimento do tegumento pupal em forma de “T” invertido (Figura 3), que vai da cabeça até a separação do tórax e

abdome, saindo por meio de movimentos de contração e expansão do corpo com as asas enroladas sobre o mesmo deixando para trás um invólucro translúcido que continua preso à folha (OLIVEIRA et al., 2001).

O adulto emergido, apresenta coloração amarela pálida, mas, três a quatro horas depois assume a coloração branca; as asas membranosas são recobertas por uma substância pulverulenta branca, enquanto que o corpo é recoberto por uma cera extra cuticular de cor amarelada (SOUZA; VENDRAMIM, 2000). Os adultos medem de 1 a 2 mm, sendo a fêmea maior que o macho (GALLO, et al, 2002). O aparelho bucal é do tipo sugador labial, sendo usado para succionar à seiva do floema que passa pelos canais de alimentação até os órgãos digestivos do inseto (VILLAS BÔAS et al., 1997). Os adultos se alimentam minutos após a emergência e o período de oviposição pode ter início 2 a 4 horas depois quando migram preferencialmente, na própria planta, das folhas mais velhas para as mais jovens (OLIVEIRA et al., 2001).

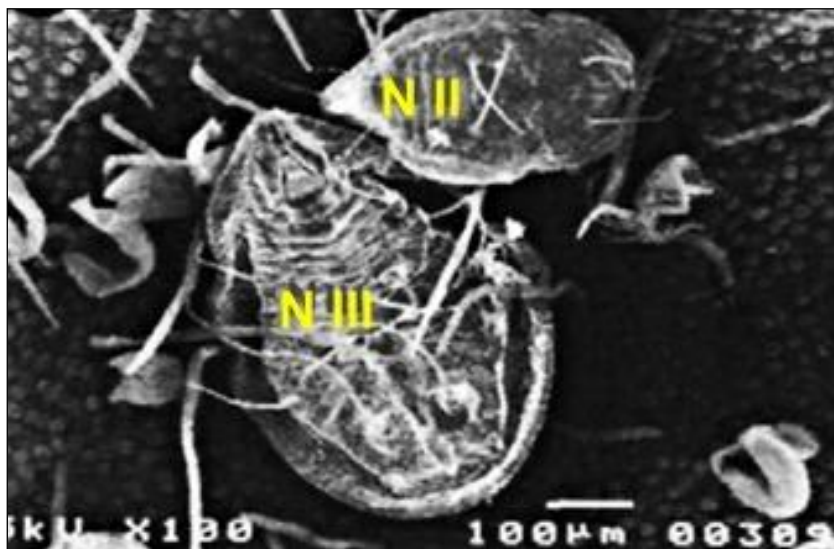


Figura 2. Ninfas de segundo e terceiro instar de *Bemisia tabaci* biótipo B (LIMA; DOS SANTOS; LARA, 2001).

Os adultos têm a habilidade de se locomover e de voar (LIU; STANSLY, 2000), podendo ser encontrados desde poucos metros até 7 km da planta hospedeira, e desde 10 cm acima da superfície do solo até 300 m de altura (GALLO et al., 2002). A duração do ciclo de vida varia de acordo com a

espécie, sendo a temperatura um dos fatores mais determinantes. O ciclo de *B. tabaci* dura, aproximadamente 19 dias a 32°C, podendo chegar a 73 dias a 15°C. Em condições favoráveis, esta praga pode apresentar de 11 a 15 gerações por ano, podendo por cada fêmea ovipositar de 100 a 300 ovos durante o ciclo de vida (MANSARAY; SUNDUFU, 2009). Assim, sob condições ótimas de temperatura e umidade e em presença de plantas hospedeiras preferenciais, a mosca-branca tem potencial para crescer linearmente (LEITE et al., 2002).

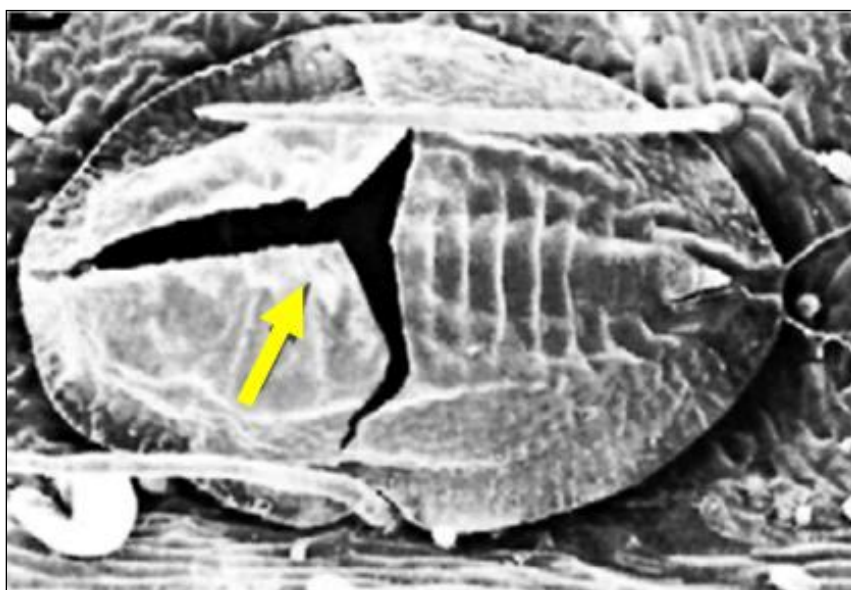


Figura 3. Orifício de saída do adulto em formato de "T" invertido (LIMA; DOS SANTOS; LARA, 2001).

2.5 Danos e importância econômica

No Brasil, esta espécie é polífaga, e está distribuída em todo o território nacional, causando perdas econômicas estimadas em 2 bilhões de reais por ano em culturas de grande interesse econômico, tais como, feijão, soja, algodão e tomate (FONTES et al, 2012; OLIVEIRA et al, 2013). O dano ao cultivo se deve pela alimentação direta no floema, que induz desordens fisiológicas, formação de fumagina, devido à excreção de *honeydew*, e transmissão de fitoviroses (BERRY et al., 2004), que podem causar injúrias como murchamento das plantas, amadurecimento irregular dos frutos e até a

morte (OLIVEIRA et al., 2001). A fumagina pode impedir a luz solar de alcançar a superfície foliar, reduzindo a fotossíntese, além de prejudicar os frutos de algumas cultivares, tornando-os não comercializáveis (ISLAM; SHUNXIANG, 2007).

Um efeito indireto da alimentação das moscas-brancas é a transmissão de fitovírus, muitos dos quais de importância econômica (JONES, 2003). De acordo com esse autor, *B. tabaci* é um excelente vetor de Geminivirus, pertencentes ao gênero Begomovirus. Esses vírus possuem alta plasticidade, sendo capaz de se adaptar a um grande número de espécies cultivadas e selvagens (MORALES et al., 2001).

Dentre as viroses transmitidas por *B. tabaci* biótipo B, destacam-se “Tomato yellow leaf curl vírus”, e “Tomato yellow vein streak vírus” em tomateiro (FIRMINO et al., 2009); e “Bean golden mosaic vírus”, causador do mosaico-dourado-do-feijoeiro, este último muito importante nas Américas do Sul e Central (CUELLAR; MORALES, 2006). Os sintomas da infecção por geminivírus estão entre amarelecimento na base dos folíolos, clareamento de nervuras, evoluindo para mosaico amarelo, redução de tamanho e enrolamento dos bordos da folha, seguido de redução da floração, paralisação no crescimento, com consequente perda na produção (MATOS et al., 2003).

2.6 Manejo de *B. tabaci*

Os agrotóxicos não têm conseguido resolver os problemas associados mosca-branca. De forma contrária, essa prática tem provocado a eliminação de inimigos naturais da praga e rápido desenvolvimento de resistência de populações do inseto aos princípios ativos da maioria dos inseticidas químicos, aumentando assim o nível de infestação do inseto nos cultivos (HILJE, 1998; MORALES et al., 2006). Populações de *B. tabaci* desenvolveram resistência a várias classes de inseticidas como organofosforados, piretróides e neonicotinóide (KARUNKER et al., 2008).

A capacidade de desenvolver resistência a diferentes inseticidas sintéticos e a necessidade de melhorar o cuidado do ambiente tem incrementado o interesse de estudar as alternativas biológicas para o controle

desta praga, incluindo a utilização de agentes microbianos, especialmente os fungos entomopatogênicos (VÁZQUEZ; LUIS, 2002). Os gêneros mais frequentemente encontrados em epizootias em *B. tabaci* são *Aschersonia*, *Isaria* e *Lecanicillium* (RAMOS et al., 2004).

2.7 Controle Microbiano

2.8.1 Histórico e Aspectos Gerais

O uso de microrganismos para o controle de insetos-praga não é novo e vem sendo empregado em grande escala, principalmente após os anos 1970, devido a problemas advindos da utilização dos inseticidas químicos. Assim, vírus, fungos e bactérias são empregados com sucesso no controle de diversos tipos de pragas e outros vários são pesquisados para futura utilização (MELO; AZEVEDO, 1998). O elevado número de relatos de populações resistentes de *B. tabaci* em consequência ao uso intensivo de inseticidas químicos tem estimulado a utilização de estratégias de manejo em que o controle biológico desempenham um papel significativo, tais como, predadores, parasitóides e microrganismos patogênicos a este inseto-praga (CAMPBELL; STEPHEN-CAMPBELL; GILL, 1995; HEINZ; NELSON, 1996; GERLING et al., 2001; NARANJO, 2001).

Um grande número de patógenos capazes de causar doença em *B. tabaci* são conhecidos e podem ser utilizados como forma de controle para esta praga, tais como rickétsias, vírus, bactérias, protozoários, nematóides e fungos. No entanto, a forma de alimentação da mosca-branca que suga seiva diretamente dos feixes vasculares das plantas, faz com que este inseto não seja muito suscetível a uma gama muito ampla de agentes patogênicos, como bactérias e vírus, que é normalmente transmitido através de alimentação da folha do hospedeiro contaminada com o patógeno (LACEY; FRANSEN; CARRUTHERS; 1996). Por outro lado, a maioria dos fungos entomopatogênicos possuem a capacidade de penetrar diretamente no tegumento de seus hospedeiros, devido a uma ação combinada de pressão mecânica e ação de enzimas. Desta forma, a produção de enzimas e toxinas é

um importante fator de virulência dos fungos entomopatogênicos e assim aumentam as chances de causar patogenicidade a esta praga (ALVES, 1998).

Pesquisas têm revelado que os fungos entomopatogênicos são os inimigos naturais mais importantes para mosca-branca, e várias espécies têm sido relatados para o seu controle (FARIA; WRAIGHT, 2007). Dentro dos programas de controle de mosca-branca em todo o mundo, as espécies de fungos que mais se destacam são: *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown e Smith, *Lecanicillium muscarium* (Zimm.) Gams e Zare, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown e Smith e *Lecanicillium lecanii*, dentre estas espécies, *B. bassiana* e *M. anisopliae* são os que possuem maior quantidade de produtos comerciais formulados em todo o mundo (BOLCKMANS et al., 1995; KNAUF; WRIGHT, 1994; TIAN et al., 2015). Para selecionar fungos patogênicos para o controle de *B. tabaci* é necessário selecionar isolados que possua as melhores características possíveis para matar o inseto alvo, por exemplo, alta capacidade de produção massal e alta produção de conídios em meios de cultura artificiais (MEEKES; FRANSEN; VAN LENTEREN, 2002).

O controle de *B. tabaci* com fungos entomopatogênicos têm sido bastantes relatado na literatura embora com potencial de sucesso variável (GINDIN et al., 2000; FARIA; WRAIGHT, 2007; GOETTEL et al., 2008, CUTHBERTSON et al. 2009). Entre as vantagens que os fungos possuem se destaca a sua grande versatilidade, através de um mecanismo de infecção especializado, sendo capazes de infectar *B. tabaci* em diferentes estágios de desenvolvimento.

Em determinadas condições, epizootias de fungos entomopatogênicos podem causar alta mortalidade de *B. tabaci* (LOURENÇÃO; YUKI; ALVES, 1999). Lourenção, Mirnada e Alves (2001) registrou uma epizootia de *V. lecanii* em *B. tabaci* biótipo B em cultura de soja na cidade de Balsas, Estado do Maranhão. De acordo com este autor, este fenômeno ocorreu devido a um forte período de precipitação, onde a umidade relativa passou de 45% para 90% e ausência de ventos. Esta epizootia levou a níveis extremamente baixos a população de mosca-branca da área. No entanto, de modo geral, epizootias naturais não são formas confiáveis de controle, porque poucas espécies de

fungos têm a capacidade de causar altos níveis de mortalidade. Além disso, o desenvolvimento de epizootias naturais depende de vários fatores ambientais e culturais (FARIA; WRAIGHT, 2001).

Os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* não são considerados reguladores naturais de populações de mosca-branca. Contudo, algumas pesquisas referem-se a *Bemisia* spp. infectados com estes fungos, quando aplicados diretamente como uma suspensão concentrada de conídios (WRAIGHT et al., 1998). Vários estudos têm procurado investigar o potencial de ação destes fungos sobre mosca-branca com o objetivo de selecionar os isolados mais virulentos para esta praga. Em pesquisa realizada em laboratório por Ramos (2001), a porcentagem de mortalidade de ninfas infectadas por *B. bassiana* variou de 2 a 70%, sendo o isolado ESALQ 447 o mais eficiente. Estudos demonstram o significativo potencial do uso de alguns isolados selecionados desse fungo em laboratório, casa-de-vegetação e campo (FRANSEN, 1990).

Em outro estudo realizado por este mesmo autor o fungo *M. anisopliae* causou mortalidade em *B. tabaci* entre 34 a 90%, sendo o isolado ESALQ E9 o mais eficiente. A partir do 3º dia de inoculação do fungo, ele ocasionou aproximadamente 30% de mortalidade, sendo o pico da mortalidade observado ao quinto dia. A suscetibilidade das ninfas a isolados de *M. anisopliae* foi evidente nos experimentos, sendo essa espécie de fungo promissora para o controle de ninfas. A velocidade de morte *Bemisia tabaci* causado por *M. anisopliae* é uma característica muito importante e altamente desejável, devido a alta capacidade que esta espécie possui na transmissão de vírus, como é o caso do biótipo B, tornando-se necessário o controle imediato da praga (HILJE, 1998).

Segundo Kleespies e Zimmermann (1994), a patogenicidade de *B. bassiana* e *M. anisopliae* pode variar sobre ninfas. Estes autores atribuem esta variação principalmente pela alta variabilidade genética das linhagens dos fungos, produção de enzimas, toxinas, aderência ao hospedeiro, velocidade de germinação dos conídios e conseqüente penetração na cutícula das ninfas e capacidade de colonização dos isolados. Além disso, de acordo com ALVES (1998) a produção de conídios e a virulência dos fungos podem ser afetadas

por diversos fatores, tais como umidade relativa, temperatura, isolado selecionado, hospedeiro, tempo e a composição do meio de cultura.

2.8.2 Modo de Ação

Ao contrário dos vírus e bactérias que frequentemente requerem que o inseto ingira o microrganismo para infecção de seu hospedeiro, os fungos entomopatogênicos infectam via penetração cuticular. A virulência de um fungo entomopatogênico envolve cinco etapas: adesão, germinação, diferenciação e de penetração e colonização. Cada um destes passos é influenciado por uma série de fatores intrínsecos e externos que atuam de forma integrada (SHAHID et al., 2012).

Uma infecção bem-sucedida é alcançada pela ligação ou adesão de esporos ao hospedeiro. A adesão é necessária e normalmente é conseguida através da secreção de mucilagem. No entanto, enzimas, lectinas, bem como forças hidrofóbicas e eletrostáticas também desempenham um papel importante neste processo (BOUCIAS; FARMERIE; PENDLAND, 1998). Após a adesão, o próximo fator de virulência de uma estirpe fúngica são as enzimas que hidrolisam a epiderme do inseto. As enzimas mais importantes secretados pelos fungos são lipases, proteases e quitinases, que são produzidos sequencialmente, refletindo a ordem dos substratos que se deparam (SMITH; PEKRUL; GRULA, 1981). A expressão dessa variedade de enzimas hidrolíticas promovem a germinação e o crescimento do fungo por toda a superfície do hospedeiro e a penetração das camadas cuticulares. Durante este processo, o fungo produz uma alta quantidade de estruturas especializadas de infecção que podem incluir cavilhas de penetração e/ou apressórios que permitem o crescimento de hifas que penetram no tegumento do hospedeiro (XIAO et al., 2012; ZHENG et al., 2011).

As enzimas produzidas pelos fungos que hidrolisam a quitina e as proteínas presentes na cutícula do inseto são consideradas vitais para o processo de infecção. Vários estudos de fungos entomopatogênicos engenheirados para superexpressar uma variedade de proteases, quitinases têm resultado em estirpes que exibem um considerável aumento da virulência

quando comparados com estirpes selvagem (FAN et al., 2007; ZHANG et al., 2008; FANG et al., 2009). A importância destas enzimas é ainda mais destacada devido a diversidade de genes (em especial proteases) encontrados nos genomas destes organismos.

Após a adesão o fungo deve ser capaz de produzir um alto número de conídios através da germinação de seus esporos. Uma ampla variedade de fatores tais como a água, íons, ácidos graxos e nutrientes na superfície da cutícula e próprios estado fisiológico do hospedeiro influenciam neste processo (HASSAN; CHARNLEY, 1989). Uma germinação bem-sucedida exige a assimilação dos nutrientes utilizáveis e uma determinada tolerância a qualquer composto tóxico presente na superfície (LATGE et al., 1997). Após a germinação, os apressórios aparecem no final do tubo germinativo ou sobre os ramos laterais (St. LEGER et al., 1988).

A penetração na cutícula do inseto é realizada pelos tubos germinativos ou pela formação de um opressório que se afixa à cutícula (WRAIGHT et al., 1998). A penetração é uma mistura simultânea de uma força mecânica e um processo enzimático (St. LEGER et al., 1988). A maior parte dos patógenos terrestres são conhecidos por penetrar diretamente na cutícula, raramente via feridas, órgãos de sentidos ou espiráculos. Uma variedade de enzimas degradantes de cutícula também é produzida durante a penetração no hospedeiro (GILLESPIE; BATEMAN; CHARNLEY, 1988). Após isso, ocorre a colonização de todo o corpo do hospedeiro, o começa a se alimentar de novas células e ocorre a reprodução dos conídios com a transformação do corpo hifal e os esporos produzidos.

2.8.3 Produtos Comerciais

Os produtos biológicos à base fungos entomopatogênicos são considerados peças fundamentais nos programas atuais de MIP e um grande número de produtos comerciais está ocupando lugar de destaque no mercado fitossanitário mundial. De acordo com MASCARIN e PAULI (2010) 171 produtos à base de fungos entomopatogênicos foram desenvolvidos nas últimas três décadas, apresentando como ingrediente ativo 12 espécies ou

subespécies de diferentes fungos com destaque para *B. bassiana* (33,9%), *M. anisopliae* (33,9%), *I. fumosorosea* (5,8%) e *Beauveria brongniartii* (4,1%). Porém, a grande maioria desses produtos (75%) ainda está em fase de registro. De acordo com este autor, cerca de 43% dos micopesticidas produzidos são comercializados na América Latina, com destaque para o Brasil.

Os fungos entomopatogênicos estão entre os principais agentes de controle microbiano de pragas no Brasil e em outros países, principalmente devido ao seu largo espectro de hospedeiros devido à sua ampla diversidade natural; capacidade de causarem epizootias em condições naturais; alta capacidade de disseminação entre os indivíduos da população da praga e apresentam mecanismos de sobrevivência que permitem sua maior persistência no ambiente (CAPALBO et al., 2008).

A eficiência de inseticidas microbiológicos para controle de *B. tabaci* sob condições de campo é em geral, não tão bom como em estufas. Normalmente isto está atribuído, em alguns casos, a condições climáticas rigorosas e até a limitações econômicas. O valor relativamente mais baixo da maioria das culturas de campo às vezes não suportam métodos de aplicação mais eficientes e altas taxas de aplicação recomendada para as culturas de estufa. De acordo com FARIA; WRAIGHT (2001) não é recomendado a utilização em larga escala de inseticidas microbiológicos para controle de *B. tabaci* em culturas de baixo valor agregado. No entanto, recomendações podem ser feitas para algumas hortaliças (especialmente cucurbitáceas). Em testes realizados por Wraight et al. (2000), *P. fumosoroseus* e *B. bassiana* foram aplicadas contra ninfas infestando melão, pepino e abobrinha. Os níveis de controle de 86-98% foram obtidos com os dois patógenos com 3-5 aplicações de baixa a altas taxas de conídios ($1,25 \times 10^{13}$ e 5×10^{13} conídios/ha) em intervalos de 4-7 dias usando um pulverizador portátil air-blast.

Em busca realizada para produtos comerciais para controle de *B. tabaci* Biótipo B para cultura da soja (cultura mais importante economicamente no Brasil), no portal AGROFIT do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), foram encontrados apenas cinco produtos microbiológicos registrados. Todos os produtos eram à base de fungos

entomopatogênicos, sendo que todos eles têm como ingrediente ativo alguma estirpe de *B. bassiana*: Ballvéria® (Ballagro Agro Tecnologia Ltda), Beauveria JCO® (JCO Indústria e Comércio de Fertilizantes Ltda.), Bouveriz Biocontrol® (Biocontrol Ltda.), Bovebio® (Biofungi Ltda.) e Granada® (Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda.).

De uma forma geral, há poucos relatos publicados de testes em campo de produtos comerciais com outros vegetais contra *B. tabaci*. Poprawski (1999) relataram 65% controle de *B. tabaci* em couve após 5 aplicações semanais da estirpe GHA de *B. bassiana*. Wraight e Bradley (1996) relataram o controle de 75% das moscas brancas em brócolos a partir de *P. fumosoroseus* em comparação com apenas 38% de *B. bassiana*. De forma contrária, Liu e Stansly (2000) observaram reduções número de ninfas em tomates e berinjelas tratada com Mycotrol®, à base *B. bassiana*.

L. muscarium e outras espécies de *Lecanicillium* têm sido utilizados comercialmente como bioinsecticidas contra a mosca-branca em todo o mundo, com variados níveis de sucesso (GINDIN et al, 2000; FARIA; WRAIGHT, 2007; Goettel et al., 2008). No entanto, resultados indicam que isolados brasileiros de *L. muscarium* foram comparativamente menos eficazes contra a *B. tabaci* biótipo B. Cuthbertson et al. (2009) também verificaram uma baixa eficácia (20-40% de mortalidade) de um isolado comercial de *L. muscarium* (Mycotal®, Koppert Biological Systems Ltda.) contra diferentes estágios de vida de *B. tabaci*.

De uma forma geral, o controle de *B. tabaci* com produtos biológicos vêm aumentando nos últimos anos, principalmente devido aos problemas enfrentados com os inseticidas químicos, como por exemplo, o surgimento de raças resistentes à maioria dos ingredientes ativos. No entanto, para que novos produtos comerciais sejam desenvolvidos e utilizados pelos produtores várias barreiras devem ser transpostas, tanto no âmbito da pesquisa, como por exemplo, novas formulações, como no âmbito político, no que se refere ao registro do produto, que ainda é um processo oneroso e requer melhorias nos processos, todos estes fatores devem ser imperativos para o desenvolvimento e o sucesso dos inseticidas microbiológicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Departamento de Fitossanidade, Campus de Jaboticabal, SP. Em uma sala climatizada a $25 \pm 1^\circ$ C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

3.1. Criação de *B. tabaci* biótipo B

A identificação e caracterização da população de *B. tabaci* usada nos bioensaios foi fornecida pelo Departamento de Entomologia do IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) que foi identificada como biótipo B.

A criação dos insetos foi mantida em plantas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) semeadas em copos de 500 mL^{-1} de plástico com terra, areia, e esterco na proporção de (3: 2: 1:) (Figura 4A). Para evitar a infestação de outros insetos e organismos as plantas de couve com aproximadamente 20 cm de altura germinadas nos copos foram protegidas por gaiolas de plásticos (50 de comprimento x 50 de largura x 80 cm de altura), após isso, insetos adultos de *B. tabaci* foram acondicionados com o auxílio de um sugador manual (ver figura 4B). As plantas com posturas foram transferidas para outra gaiola iniciando assim novamente o ciclo da praga.

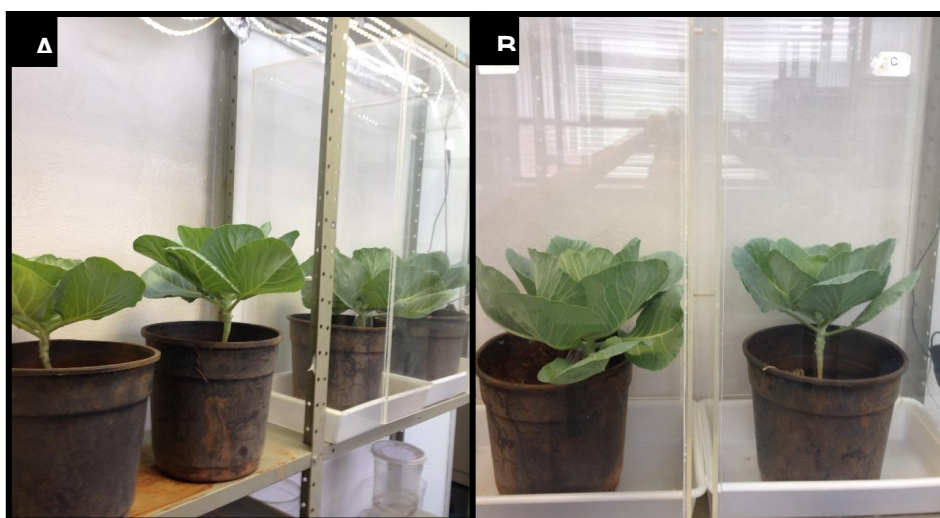


Foto: D. J. L. Espinosa

Figura 4: Criação de *B. tabaci*. (A) plantas semeadas, (B) plantas em gaiolas de plásticos.

3.2. Isolados de fungos entomopatogênicos

Os isolados de *L. muscarium* e *M. rileyi* do banco de entomopatógenos do LCMAP (Tabela 1) foram armazenados em tubos de ensaio a - 4°C e multiplicados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) em meio de esporulação Sabouraud Dextrose Agar com Extrato de Levedura (SDAY) e para o fungo *B. bassiana* foi utilizado Sabouraud Dextrose Agar (SDA) de acordo com a metodologia proposta por ALVES et al. (1998) respectivamente. Depois os fungos inoculados foram levados para uma câmara incubadora tipo Biological Oxygen Demand (B.O.D.), regulada a 28±1°C, UR de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12:12 horas, durante oito dias para estimular crescimento vegetativo e a esporulação.

Após a formação das colônias, foram obtidos os isolados. Em seguida, os conídios foram suspensos em 10 mL⁻¹ de água destilada esterilizada + Tween® 80 (0,01%) e agitados em vórtex durante um minuto, sendo a suspensão quantificada em câmara de Neubauer, e padronizada na concentração de 10⁸ conídios/mL⁻¹ para os ensaios de patogenicidade (JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003).

Tabela 1. Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios.

Fungo	Isolado	Origem
<i>B. bassiana</i>	IBC18	Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental do Instituto Biológico, Campinas (SP)
	IBC35	
	IBC66	
	JAB07	Laboratório de Microbiologia do Departamento de Produção Vegetal (FCAV/UNESP), Jaboticabal (SP)
<i>M. rileyi</i>	NOM1950	Coleção de fungos entomopatogênicos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), Ithaca, NY, EUA.
<i>L. muscarium</i>	LCMAP3790	Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Departamento de Fiossanidade, Jaboticabal, SP.

3.3. Patogenicidade dos isolados contra ovos e ninfas de *B. tabaci*

Para a avaliação da patogenicidade dos isolados, cada tratamento foi composto por cinco folíolos de feijão com 20 ninfas de terceiro ínstar de *B. tabaci*. Para a obtenção de ninfas de mesmo ínstar, foram selecionadas mudas

de feijão com folíolos de aproximadamente 15 cm² (Figura 5B). Em cada gaiola foram confinados 60 indivíduos adultos de *B. tabaci* isolados, confeccionados com tecido voil de 12 x 20 cm na parte de cima da gaiola (Figura 5A). Após 24 horas, os adultos foram retirados e após 15 dias, 5 folhas foram destacadas da planta. As ninfas de terceiro ínstar foram utilizadas para os bioensaios por serem imóveis, permitindo a sua manipulação (JAMES; BUCKNER; FREEMANC, 2003).

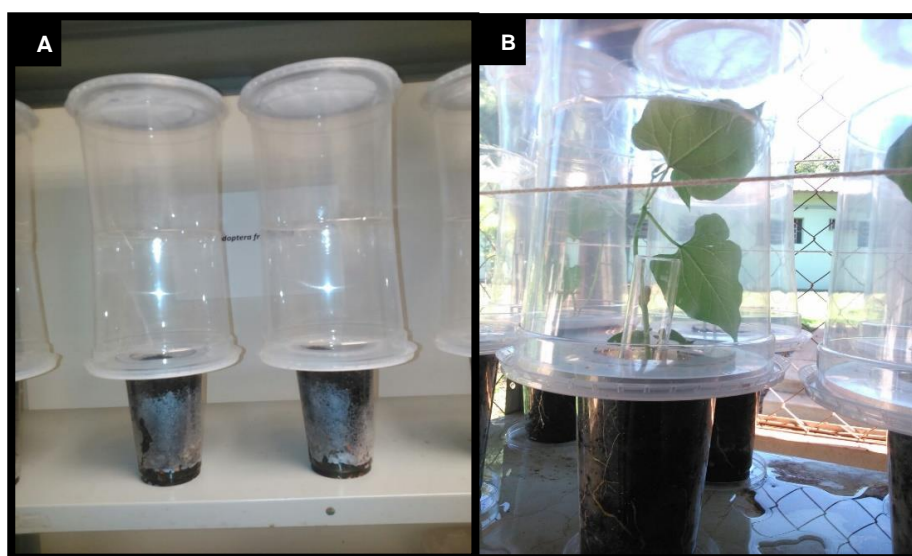


Foto: D. J. L. Espinosa

Figura 5: (A) gaiola confeccionada, (B) mudas de feijão.

Para os bioensaios com ovos de *B. tabaci*, após o período relacionado à oviposição, os adultos foram retirados das gaiolas, sendo os folíolos destacados das plantas de feijão e, com auxílio de um microscópio estereoscópico, os ovos de mosca-branca foram selecionados através de marcações realizadas ao lado de cada ovo, de acordo com metodologia proposta por Vicentini, Faria e Oliveira (2001). As ninfas presentes nas folhas de feijão foram selecionadas com o auxílio de microscópio estereoscópico e realizadas marcação ao lado de cada uma ((JAMES; BUCKNER; FREEMANC, 2003; VICENTINI; FARIA; OLIVEIRA, 2001). Para os tratamentos com fungos, 5 folíolos de feijão de 8 cm² foram mergulhados por 10 segundos em uma suspensão contendo o fungo na concentração de aproximadamente 10⁸ conídios/mL⁻¹. Da mesma forma no controle, os folíolos foram imersos em uma solução de 10 mL⁻¹ de água autoclavada + Tween® 20 (0,05%).

Posteriormente, os pecíolos das folhas de feijão foram imersos em ágar-água (1,5%) no interior de recipiente (9,5 cm de diâmetro x 10 cm de altura) para manter a turgidez (POTRICH et al., 2011). Todo o experimento foi feito em triplicata. Os recipientes foram mantidos sob condições de controladas ($25\pm 1^\circ\text{C}$ de T; UR $70\pm 10\%$ e fotoperíodo de 12:12 horas). As avaliações de mortalidade foram realizadas diariamente por sete dias, sendo as ninfas mortas caracterizadas inicialmente pela flacidez do tegumento e também pela coloração esbranquiçada (LANDA et al., 1994; JAMES; BUCKNER; FREEMAN, 2003) (Figura 6). As mortalidades dos ovos foram confirmadas pelos ovos micosados, necrosados e os que não eclodiram (GINDIN et al., 2000).



Figura 6. Ninfas de *B. tabaci* mortas com sintomas de infecção por fungos entomopatogênicos

3.4 Estimativa da CL_{50} dos isolados de fungos entomopatogênicos

Para avaliação da virulência dos isolados foi feita a estimativa da concentração letal (CL_{50}) dos isolados de fungos entomopatogênicos. Foram considerados os isolados que causaram mortalidade acima de 80% dos ovos e ninfas de *B. tabaci*. Os bioensaios de estimativa de CL_{50} foram conduzidos da mesma forma como descrito anteriormente acima, utilizando seis suspensões de conídios nas concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/ mL^{-1} , a fim de estimar a curva de dose-resposta de cada isolado (QUESADA et al.,

2006). Para cada concentração foram utilizadas 60 ninfas de 3º instar de *B. tabaci*. A mortalidade dos ovos e ninfas foi avaliada sete dias após inoculação do fungo. Para confirmação da mortalidade provocada pelo fungo, os ovos e ninfas fixas nas folhas de feijão, foram mantidas uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro levemente umedecido com água destilada, vedados e acondicionados em câmara climatizada ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12:12 e UR de $70 \pm 10\%$).

3.5 Análises Estatísticas

Os resultados de mortalidade de ovos e ninfas de *B. tabaci* foram previamente corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) em relação a mortalidade natural observada no controle. Todos os resultados foram previamente verificados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro e Wilk (1965) e homogeneidade pelo teste de Barlett, sendo posteriormente ajustados ao modelo binomial com a função de ligação Probit. Os resultados expressos em proporções foram previamente submetidos a transformação de arcoseno para posterior análise de variância (teste F). As médias estatisticamente diferentes, foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para a estimativa da CL_{50} foi utilizado o método de regressão de Probit ($P < 0,05$). As estimativas de CL_{50} foram comparadas com base na sobreposição dos intervalos de confiança a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas no software SAS, versão 9.1 (SAS, 2002).

4. RESULTADOS

Todos os isolados testados foram patogênicos para ovos e ninfas de *B. tabaci* (Fig. 1). O estágio de desenvolvimento influenciou na mortalidade de *B. tabaci*, sendo que a fase ninfal foi mais susceptível aos isolados de fungo entomopatogênicos ($F = 39,535$. $P < 0,0001$). Os isolados IBCB66, NOM1950 e LCMAP3790 apresentaram maior mortalidade para a fase de ninfa comparada à fase de ovo.

A mortalidade de ovos variou de 32,1 a 95,0% após 7 dias de avaliação. Os isolados IBCB35, IBCB18, JAB07 e LCMAP3790 causaram as

maiores taxas de mortalidade sobre os ovos de *B. tabaci*, diferindo estatisticamente dos demais isolados ($F = 246,051$; $P < 0,0001$), com exceção do isolado LCMAP3790 que não diferiu do IBCB18. O isolado IBCB66 causou a pior taxa de mortalidade dos ovos (32,1%).

A mortalidade das ninfas variou de 63,3 a 100,0% após 7 dias de avaliação. Os isolados JAB07, IBCB18, LCMAP3790 e NOM1950 causaram maior mortalidade, diferindo significativamente dos demais isolados ($F = 28,963$; $P < 0,0001$), no entanto, somente os três primeiros foram letais para ninfas de *B. tabaci*. Os isolados JAB07 e LCMAP3790 causaram as mais altas taxas de mortalidades em ninfas de 3º ínstar de *B. tabaci* no primeiro dia de avaliação, diferindo significativamente dos demais isolados (77 e 65%, respectivamente) ($F = 55,57$; $P > 0,0001$).

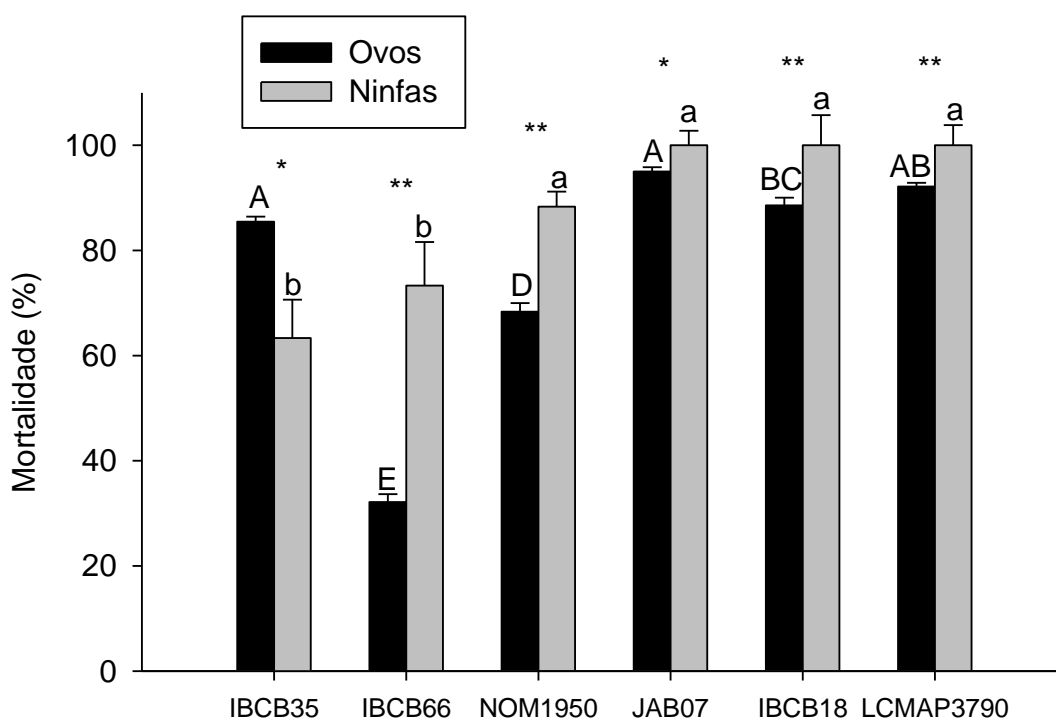


Fig. 1. Mortalidade (% \pm EP) de ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo B após aplicação de seis isolados de fungos entomopatogênicos: *Metarhizium riley* (NOM1950), *Beauveria bassiana* (IBCB35, IBCB66, IBCB18 e JAB07) e *Lecanicillium muscarium* (LCMAP3790) na concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹. Colunas seguidas de mesma letra maiúscula e minúscula não diferem estatisticamente para a taxa de mortalidade causada pelos isolados nos ovos e

ninfas, respectivamente. Isolados com um asterisco não diferiram entre a mortalidade de ninfas e de ovos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Para os resultados de virulência foi observado que o isolado JAB07 de *B. bassiana* possui potencial de causar mortalidade de 50% de ovos e ninfas com a menor concentração de conídios (Tabelas 2 e 3), sendo este o mais virulento dentre os isolados testados, possuindo uma CL₅₀ estimada de 0,006 e 0,012 x 10³ conídios/mL⁻¹ para ninfas de 3^o ínstar e de ovos, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais.

Tabela 2. Estimativa da concentração letal (CL₅₀) de isolados de fungos entomopatogênicos aplicados sobre ninfas de 3^o ínstar de *Bemisia tabaci* biótipo B após sete dias de avaliação.

Fungo	Isolado	n	CL ₅₀ (x10 ³ con.mL ⁻¹)	IC 95% ^{a d}	Slope ± EP ^b	X ² ^c
<i>L. muscarium</i>	LCMAP3790	300	0,023	0,018 - 0,030	0,31 ± 0,09	0,15
<i>B. bassiana</i>	IBCB18	300	0,084	0,062 - 0,115	0,23 ± 0,05	49,81
<i>B. bassiana</i>	JAB 07	300	0,006	0,002 - 0,012	0,20 ± 0,05	22,04
<i>M. riley</i>	NOM1950	300	0,217	0,098 - 0,428	0,14 ± 0,02	3,41

^a Intervalo de confiança com limite de fidelidade a 95% de probabilidade

^b Coeficiente angular ± Erro padrão;

^c X²=qui-quadrado (p<0,05);

^d Intervalos de confiança de 95% de probabilidade que não se sobrepõe indicam diferenças estatisticamente significativas entre valores de CL₅₀.

Tabela 3. Estimativa da concentração letal (CL₅₀) de isolados de fungos entomopatogênicos aplicados sobre ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B após sete dias de avaliação.

Fungo	Isolado	n	CL ₅₀ (x10 ³ con.mL ⁻¹)	IC 95% ^{a d}	Slope ± EP ^b	X ² ^c
<i>L. muscarium</i>	LCMAP3790	300	0,229	0,120 - 0,408	0,15 ± 0,02	10,59
<i>B. bassiana</i>	IBCB18	300	0,244	0,110 - 0,484	0,14 ± 0,02	1,78
<i>B. bassiana</i>	JAB07	300	0,012	0,003 - 0,031	0,14 ± 0,02	8,76
<i>B. bassiana</i>	IBCB35	300	0,223	0,099 - 0,446	0,14 ± 0,02	0,98

^a Intervalo de confiança com limite de fidelidade a 95% de probabilidade

^b Coeficiente angular ± Erro padrão;

^c X²=qui-quadrado (p<0,05);

^d Intervalos de confiança de 95% de probabilidade que não se sobrepõe indicam diferenças estatisticamente significativas entre valores de CL₅₀.

5. DISCUSSÃO

Todos os isolados foram patogênicos para ovos e ninfas de *B. tabaci* biótipo B. De uma forma geral, foi observada maior susceptibilidade na fase de ninfa comparado à fase de ovo, sendo significativos nos isolados IBCB66, NOM1950, JAB07 e LCMAP3790, apenas o isolado IBCB35 causou maior mortalidade de ovos comparada às ninfas. Está menor susceptibilidade dos ovos pode estar relacionada a barreira física da estrutura do córion que impede a penetração dos esporos ou por compostos antifúngicos presentes nesta estrutura que inibem a germinação do tubo germinativo (ORTIZ-URQUIZA; NEMAT, 2013). Este resultado é corroborado por estudos prévios que relataram baixa susceptibilidade de ovos de *B. tabaci* a outros isolados de *B. bassiana* e *L. muscarium* bem como a outros fungos entomopatogênicos (GINDIN et al., 2000; RAMOS et al., 2000; ESPINEL; TORRES; COTES, 2009).

O isolado LCMAP3790 de *L. muscarium* causou 100% de mortalidade das ninfas e 92,1% dos ovos de *B. tabaci*. Este isolado alcançou esta taxa de mortalidade no quarto dia de avaliação, sendo o mais rápido dentre os isolados testados. Geralmente, a velocidade de morte do inseto está relacionada a germinação dos conídios sobre o hospedeiro e aos índices de crescimento do entomopatógeno (ABDEL-BAKY; ARAFAT; ABDEL-SALAM, 2002), os quais variam enormemente de espécie para espécie e de isolado para isolado (LANDA et al., 1994; MASCARIN et al., 2013). De forma contrária, estudos em campo usando outros isolados de *L. muscarium* revelaram baixa eficiência de controle de ninfas de *B. tabaci* (GINDIN et al., 2000; FARIA; WRAIGHT, 2007; GOETTEL et al., 2008, CUTHBERTSON et al., 2009). Em laboratório, MASCARIN et al. (2013) também observou baixa eficiência de controle (<60%) isolados de *L. muscarium* comparados a *Isaria fumosorosea* e *B. bassiana*.

Dos isolados testados, o IBCB35 de *B. bassiana* demonstrou possuir alta atividade ovicida contra *B. tabaci*. Ao contrário do observado para outros isolados, o IBCB35 causou maior mortalidade na fase de ovo à fase de ninfa (85 e 63%, respectivamente), embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Esta característica é economicamente relevante pois consegue realizar o controle da praga antes de sua emergência e impedir danos diretos ou indiretos à cultura.

Neste estudo JAB07 e IBCB18 de *B. bassiana* também apresentaram bons resultados no controle de ninfas (100%) e ovos (>80%) de *B. tabaci* (Tabelas 2 e 3). Os isolados aqui estudados possuem melhor controle de ninfas do que os previamente estudados (<80%) e um controle de ovos muito superior ao relatado por Al-deghairi (2008) de apenas 8%. Vários estudos confirmam o potencial de *B. bassiana* para o controle de mosca-branca, sendo esta a espécie com maior quantidade de produtos formulados em todo o mundo para esta praga (WRAIGHT et al., 1998, RAMOS et al., 2000; VICENTINI; FARIA; OLIVEIRA, 2001; QUESADA- MORAGA et al., 2006; CABANILLAS; JONES, 2009), por ser facilmente cultivada em meio de cultura artificial e compatível com diferentes tipos de formulação (FARIA; WRAIGHT, 2007; JACKSON; DUNLAP; JARONSKI, 2010).

De acordo com os resultados de virulência (Tabela 2), o melhor isolado, tanto para ninfas quanto para ovos, foi o JAB07 de *B. bassiana*, que produziu os menores valores estimados de CL₅₀ para estas duas fases de desenvolvimento de *B. tabaci*. Estes valores também foram menores do que os observados para outros isolados destes fungos (MASCARIN et al., 2013). Surpreendentemente, enquanto os relatos prévios envolvendo outros isolados de *L. muscarium* demonstraram baixa eficiência, o utilizado neste estudo foi mais virulento do que as outras espécies testadas. De maneira geral, o mecanismo de infecção fúngica utiliza proteases, lipases e quitinases para degradar o tegumento da ninfa, facilitando a entrada do fungo (MONZÓN, 2001). Além disso, proteínas tóxicas, como as bauvericinas, produzidas por *B. bassiana*, são determinantes para a alta virulência deste entomopatógeno (GÓMEZ, 1998; VARGAS, 2003).

O isolado de *M. rileyi* apresentou alta atividade contra ninfas de *B. tabaci* (88% de mortalidade), assim como já relatado para outros lepidópteros (DEVI et al., 2003; RIZZO; LA ROSSA, 1994; SRISUKCHAYAKUL; WIWAT; PANTUWATANA, 2005). Além dos valores estimados de CL₅₀ serem maiores do que os obtidos para os outros fungos aqui estudados, o *M. rileyi* é altamente sensível às condições nutricionais e ambientais, o que limita a sua produção massal, formulação e comercialização (TRUMPER; EDELSTEIN; LECUONA, 2004; SONG et al., 2013).

6. CONCLUSÃO

Os isolados JAB07 e IBCB18 de *B. bassiana* e o LCMAP3790 de *L. muscarium* foram os isolados que causaram as mais altas taxas de mortalidade de ninfas e ovos de *B. tabaci*. Dentre estes, JAB07 foi o isolado mais virulento para ovos e ninfas, podendo assim ser indicado para futuros testes a campo para o controle de *B. tabaci*.

7. REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.
- ABDEL-BAKY, N. F.; ARAFAT, N. S.; ABDEL-SALAM, A. H. Three *Cladosporium spp.* As promising biological control candidates for controlling whiteflies (*Bemisia spp.*) in Egypt. **Pakistan of Journal Biological Sciences**, v.1, p. 188-195, 2002.
- AL-AIDOORS, K.; ROBERTS, D. W. Mutants of *Metarhizium anisopliae* with increased virulence toward mosquito larvae. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 11, p. 211-219, 1978.
- AL-DEGHAIRI, M. A. Bioassay evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beuveria bassiana* Vuellemin against eggs and nymphs of *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n 12, p. 1551-1560, 2008.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1986. 125 p.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998.
- BARBOZA, J. C.; BARRETO, S. S.; INOUE-NEGATA, A. K.; RESENDE, J. A. M. Characterization and experimental host range of a Brazilian tomato isolate of Tomato severe rugose vírus, **Journal of Phytopatology**, v. 159, p. 644-646, 2011.
- BASIT, M. S.; SAEED, M.A.; SALEEM, I.; DENHOLM, M. S.; Detection of resistance, cross-resistance, and stability of resistance to new chemistry insecticides in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), **Journal of Economy Entomology**, v. 106, p. 1414–1422, 2013.

BERRY, S.D.; FONDONG, V.N.; REY, C.; ROGAN, D.; FAUQUET, C.M.; BROWN, J.K. Molecular evidence for five distinct *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) geographic haplotypes associated with cassava plants in Sub Saharan Africa. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, p. 852-859, 2004.

BOLCKMANS K.; STERK G.; EYAL J.; SELS B. STEPMAN, W. PerFeRal, (*Paecilomyces fumosoroseus* strain Apopka 97), A new microbial insecticide for the biological control of whiteflies in greenhouses. **Mededelingen Faculteit Landbouww Universiteit Gent**, v.60, n.3, p.707-711, 1995.

BOUCIAS, D. G.; FARMERIE, W. G.; PENDLAND J. C. Cloning and sequencing the cDNA of the insecticidal toxin, Hirsutellin A. **Journal of invertebrate pathology**, v. 72, n. 3, p. 258-261, 1998.

BROWN, J. K. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector–Begomovirus complexes. **Virus research**, v. 71, n. 1, p. 233-260, 2000.

BUCKNER, J. S.; FREEMAN, T. P.; RUUD, R. L.; CHU, C.; HENNEBERRY, T. J. Characterization and functions of the whitefly egg pedicel. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 49, n. 1, p. 22-33, 2002.

BYRNE, D.; MILLER, W.B. Carbohydrate and amino acid composition of phloem sap and honeydew produced by *Bemisia tabaci*. **Journal of Insect Physiology**, v. 36, p. 433-439, 1990.

CABANILLAS, E. H.; JONES, A. W. Effects of Temperature and culture media on vegetative growth of an entomopathogenic fungus *Isaria* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae) naturally affecting the whitefly, *Bemisia tabaci* in Texas. **Mycopathologia**, v. 167, p. 263-271, 2009.

CAMPBELL, B. C.; STEPHEN-CAMPBELL, J. D.; GILL, R. Origin and radiation of whiteflies: an initial molecular phylogenetics assessment. In: Gerling, D., Mayer, R. T. (Ed.), **Bemisia: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management**. Intercept, UK, 1995. p. 29-52.

CAMPOS, Z. R.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; LOURENÇÃO, A. L.; CAMPOS, A. R. Parâmetros biológicos de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Homoptera: Aleyrodidae) em genótipos de algodoeiro. **Bragantia**, v.68, n.4, p.1003-1007, 2009.

CAPALBO, D.M.F.; MORAES, I.O.; ARANTES, O.M.N.; REGIS, L.N.; VEGA, O.F-L.; BENINTENDE, G.B.; GUIMARÃES, S.E.; ARRUDA, R.O.M.; MORAES, R.O. Produção de bactérias entomopatogênicas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 239-256.

CUELLAR, M. E.; MORALES, F. J. La mosca-blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vectora de virus en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 32, n 1, p. 1-9, 2006.

CUTHBERTSON, A. G. S.; BLACKBURN, L. F.; NORTHING, P.; LUO, W.; CANNON, R. J. C.; WALTERS, K. F. A. Leaf dipping as an environmental screening measure to test chemical efficacy against *Bemisia tabaci* on poinsettia plants. **International Journal of Environmental Science & Technology**, v. 6, p. 347–352, 2009.

DEVI, P. V.; PRASAD, Y. G., CHOWDARY, D. A., RAO, L. M., BALAKRISHNAN, K. Identification of virulent isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **Mycopathologia**, v. 156, p. 365-373, 2003.

ESPINEL, C. C.; TORRES, T. L.; COTES, P. A. M.; Effect of entomopathogenic fungi over development stages of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 35, p. 18-21, 2009.

FAN, Y.H.; FANG, W.G.; GUO, S.J.; PEI, X.Q.; ZHANG, Y.J.; XIAO, Y.H.; LI, D.M.; JIN, K.; BIDOCHKA, M.J.; PEI, Y. Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* strains overexpressing an engineered chitinase. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, p. 295-302, 2007.

FANG, W.G.; FENG, J.; FAN, Y.H.; ZHANG, Y.J.; BIDOCHKA, M.J.; LEGER, R.J.S.; PEI, Y. Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 102, n. 2, p. 155-159. 2009.

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

FARIA, M.R., WRAIGHT, S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, p. 237–256, 2007.

FIRMINO, A. C.; YUKI, V. A.; MOREIRA, A. G.; REZENDE, J. A. M. Tomato yellow vein streak virus: relationship with *Bemisia tabaci* biotype B and host range. **Scientia Agricola**, v. 66, n.6, p. 793-799, 2009.

FONTES, H. M.; COLOMBO, C. A.; LOURENÇÃO, A. L. Structure of genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) populations in Brazilian crops and locations. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 1, p. 47-53, 2012.

FRANSEN, J.J. Fungi of aphids, thrips and whitefly in the greenhouse environment. In: **Internacional colloquium on invertebrate pathology and microbial control**, (Ed: 5), Adelaide, 1990. p. 376-380.

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.

GENNADIUS, P. Disease of tobacco plantations in the Trikonía. The aleurodid of tobacco. **Ellenike Georgia**, v. 5, p. 1-3, 1889.

GERLING, D.; ALOMAR, O.; ARNO, J. Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. **Crop Protection**, v. 20, n.9, p.779-799, 2001.

GILLESPIE, J. P.; BATEMAN, R.; CHARNLEY A. K. Role of cuticle-degrading proteases in the virulence of *Metarhizium* spp. for the desert locust, *Schistocerca gregaria*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 71, p. 128-137, 1988.

GINDIN, G.; GESCHTOVT, N. U.; RACCAH, B.; BARASH, I. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Phytoparasitica**, v. 28, p. 229-239, 2000.

GOETTEL, M. A.; KOIKE, M.; KIM, J. J.; AIUCHI, D.; SHINYA, R.; BRODEUR, J. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 256–261, 2008.

GÓMEZ H. Importancia de los hongos entomopatógenos. In: A. Lizarraga T., U. Barreto C. y J. Hollands. **En Nuevos Aportes del Control Biológico en la Agricultura sostenible**. 1998. p. 97-112,.

HASSAN, A. E. M.; CHARNLEY, A. K. Ultrastructural study of the penetration by *Metarhizium anisopliae* through dimilin-affected cuticle of *Manduca sexta*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 54, n 1, p. 117-124, 1989.

HEINZ, KEVIN M.; NELSON, JUDITH M. Interspecific Interactions among Natural Enemies of Bemisiain an Inundative Biological Control Program. **Biological Control**, 1996, v. 6, n 3, p. 384-393, 1996.

HILJE, L. A. model of internacional agricultural collaboration for whitefly and geminivirus managent in Latin America and Caribeen. **Manejo Integrado de Plagas**, n. 49, p.1-9, 1998.

HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance **Pest of Management Science**, v. 70, p. 1568–1572, 2014.

ISLAM, M. T.; SHUNXIANG, R. Development and reproduction of *Bemisia tabaci* on three tomato varieties. **Journal of Entomology**, v. 4, n. 3, p. 231–236, 2007.

JACKSON, M. A.; DUNLAP, C. A.; JARONSKI, S. T. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. **En The Ecology of Fungal Entomopathogens**. Netherlands, p. 129-145. 2009.

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

JONES, D.R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, n. 3, p. 195-219, 2003.

KARUNKER, I.; BENTING, J.; LUEKE, B.; PONGE, T.; NAUEN, R.; RODITAKIS, E.; VONTAS, J.; GORMAN, K.; DENHOLM, I.; MORIN, S. Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance of imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, n. 6, p. 634-644, 2008.

KLEESPIES, R.G.; ZIMMERMANN, G. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol Science and Technology**, v.4, p.309-319, 1994.

KNAUF, T. A.; WRIGHT, J. E. *Beauveria bassiana* (ATCC 74040): Control of insects pests in field crops and ornamentals. **Pests and Diseases**, v. 3, p. 1103-1108, 1994.

LACEY, L. A.; FRANSEN, J. J.; CARRUTHERS, R. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. In: GERLING, D.; MAYER, R. T. **Bemisia: taxonomy, biology, damage, control and management**. Andover, UK: Intercept, 1996. p. 401-433.

LANDA, Z.; OSBORNE, L.; LOPEZ, F.; EYAL, J. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies. **Biological Control**, v. 4, p. 341-350, 1994.

LATGE, J. P.; SAMPEORO, L.; BREY, P.; DIAQUIN, M. Entomopathogenic Fungi. **Journal of general microbiology**, v. 133, p. 1987-1997, 1997.

LEITE, G. L. D.; PICANÇO, M. C.; ZANUNCIO, J. C.; MOREIRA, M. D.; PEREIRA, P. R. **Fatores que influenciam o ataque de mosca-branca em jiloeiro**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.37, p. 1033-1037, 2002.

LIMA, A. C. S.; DOS SANTOS, J. M.; LARA, F. M. Morfologia da mosca-branca, *Bemisia tabaci* biótipo "B" (Hemiptera: Aleyrodidae), encontrada em Jaboticabal, SP, com Base em electronmicografias de varredura. **Boletín de sanidad vegetal**. v. 27, n. 3, p. 315-322, 2001.

LIU, T. X.; STANSLY, P. A. Insecticidal activity of surfactants and oils against silverleaf whitefly (*Bemisia argentifolii*) nymphs (Homoptera: Aleyrodidae) on collards and tomato. **Pest management science**, v. 56, no 10, p. 861-866, 2000.

LOURENÇÃO, A. L.; MIRANDA, M. A. C.; ALVES, S. B. Ocorrência epizootica de *Verticillium lecanii* em *Bemisia tabaci* biótipo B no Estado do Maranhão. **Neotropical Entomology**, v.30, n.1, p.183-185, 2001.

LOURENÇÃO, A. L.; YUKI, V. A.; ALVES, S. B. Epizootia de *Aschersonia* cf. *goldiana* em *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biótipo B no Estado de São Paulo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.2, p.343-345, 1999.

MANSARAY, A.; SUNDUFU, A. J. Oviposition, development and survivorship of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* on soybean, *Glycine max*, and the garden bean, *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Insect Science**, v.9, n.1, p. 1-6, 2009.

MARTIN, J. H.; MIFSUD, D.; RAPISARDA, C. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and Mediterranean basin. **Bulletin of Entomological Research**. v. 90, n. 5, p. 407-448, 2000.

MASCARIN, G. M.; PAULI, G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. In: Madelaine Venzon; Trazilbo José de Paula Júnior; Angelo Pallini. Ed. 1. **Controle Alternativo de Pragas e Doenças na Agricultura Orgânica. Viçosa**: U.R. EPAMIG ZM, v. 4, p. 169-195, 2010

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

MATOS, E. S.; SIQUEIRA, W. J.; LOURENÇÃO, A. L.; MELO, A. M. T.; SAWAZAKI, H. E.; SOUZA-DIAS, J. A. C.; COLARICCIO, A. Resistência de genótipos de tomateiro a um isolado de geminivírus do cinturão verde de Campinas, São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 159-165, 2003.

MEEKES, E. T. M.; FRANSEN, J. J.; VAN LENTEREN, J. C. Pathogenicity of *aschersonia* spp. against whiteflies *Bemisia argentifolii* and *Ttrialeurodes vaporariorum*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 81, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Controle microbiano de insetos-praga e seu melhoramento genético. In: AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA, 1998.

MORALES, F. J.; ANDERSON, P. K. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. **Archives of virology**, v. 146, n 3, p. 415-441, 2001.

MORALES, F.; CARDONA, C.; BUENO J.; RODRIGUEZ I. **Manejo de integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por moscas blancas**. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 2006. p.150-160.

NARANJO, S.E. Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, v.20, n.9, p.835-852, 2001.

OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 1–15, 2013.

OLIVEIRA, M. R. V.; HENNEBERRY, T. J.; ANDERSON, P. History, current status, and collaborative research projects for *B. tabaci*, **Crop Protection**, v. 20, p. 709-723, 2001.

ORTIZ-URQUIZA, A.; NEMAT O. K. "Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle." **Insects**, v. 4, n.3, 357-374, 2013.

PERRING, T. M. The *Bemisia tabaci* species complex. **Crop protection**, v. 20, n. 9, p. 725-737, 2001.

POPRAWSKI, T.J. Control of *Bemisia argentifolii* on collards using different formulations and rates of *Beauveria bassiana*, **Arthropod Manage. Tests** 24, 122–123, 1999.

POTRICH, M.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, L. F. A.; PIZZATTO, M.; SILVA, E. R. L.; LUCKMANN, D.; GOUVEA, A.; ROMAN, J. C. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, Supl. 1, p. 1783-1792, 2011.

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

QUINTERO, C.; RENDÓN, F.; GARCÍA, J.; CARDONA, C.; LÓPEZ-ÁVILA, A.; HERNÁNDEZ, P. Especies y biotipos de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos semestrales de Colombia y Ecuador. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 27 n. 1-2, p. 27-31, 2001.

RAMOS, E. Q.; ALVES, S. B.; DEMÉTRIO, C. G. B.; COSTA, S. C. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 73, p. 21-28, 2004.

RAMOS, E. Q.; ALVES, S. B.; TANZINI, M. R.; LOPES, R. B. Susceptibilidad de *Bemisia tabaci* a *Beauveria bassiana* em condições de laboratório. **Manejo Integrado de Plagas**, v. 56, p. 65-69, 2000.

RAMOS, E.Q. **Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B**. Piracicaba, 2001. 57p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

RIZZO, H.F.; LA ROSSA, F.R. Aspectos morfológicos y biológicos de una especie argentina poco conocida, *Plusia bonaerensis* Berg. (Lep. Noctuidae). **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 14, p. 13-16, 1994.

SHAH, P. A.; PELL, J. K. Entomopathogenic fungi as biological control agents. **Applied of Microbiology Biotechnology**, v. 61, p. 413-423, 2003.

SHAHID, A. L.; RAO, A. Q.; BAKHSH, A.; HUSNAIN, T. Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. **Archives of Biological Sciences**. v. 64, n. 1, p. 21-42, 2012.

SILVA, M. C.; LEMOS, R. N. S.; LIMA, L. H. C.; GOULART, L. R.; PEREIRA, S. R. F. Variabilidade genética de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em cultivos olerícolas em São Luís, MA. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 762-768, 2009.

SINISTERRA, X. H.; KENZIE, C. L.; HUNTER, W. B.; POWELL, C. A.; SHATTERS, R. G. Differential transcriptional activity of plant-pathogenic begomoviruses in their whitefly vector (*Bemisia tabaci*, Gennadius: Hemiptera Aleyrodidae), **Journal of General Virology**, v. 86, p. 1525-1532, 2005.

SMITH, R. J.; PEKRUL, S.; GRULA, E. A. Requirement for sequential enzymatic activities for penetration of the integument of the corn earworm. **Journal of invertebrate pathology**, v. 38, p. 335-344, 1981.

SONG, Z.; YIN, Y.; JIANG, S.; LIU, J.; WANG, Z. Optimization of culture medium for microsclerotia production by *Nomuraea rileyi* and analysis of their viability for use as a mycoinsecticide. **Biocontrol**, v. 59, p. 597-605, 2014.

SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de extratos aquosos de Meliáceas sobre *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiro. **Bragantia**, v. 59, n. 2, p. 173-179, 2000.

SRISUKCHAYAKUL, P.; WIWAT, C.; PANTUWATANA, S. Studies on the pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*, **Science Asia**, Bangkok, v. 31, p. 273-276, 2005.

ST. LEGER, R. J.; DURRANDS, P. K.; CHAMELY, A. K.; COOPER, R. M. Role of extracellular chymoelastase in the virulence of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 52, p. 285-293, 1988.

TIAN, J.; DIAO, H. L.; LIANG, L.; HAO, C.; ARTHURS, S.; MA, R. Y. Pathogenicity of *Isaria fumosorosea* to *Bemisia tabaci*, with some observations on the fungal infection process and host immune response, **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 130, p. 147-153, 2015.

TRUMPER, E.; EDELSTEIN, J.; LECUONA, R. Selection of culture media and in vitro assessment of temperature-dependent development of *Nomuraea rileyi*. **Neotropical Entomology, Londrina**, v. 33, n. 6, p. 737-742, 2004.

UEDA, S.; BROWN, J. K. First Report of the Q Biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by Mitochondrial Cytochrome Oxidase I Sequence Analysis. **Phytoparasitica**, v. 34, n. 4, p. 405-411, 2006.

VARGAS, M. **Caracterización de tres cepas de *Beauveria brongniartii* (Saccardo), Petch y su virulencia sobre *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen)**. Tesis para obtener el Título Profesional de Biólogo, mención en Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú, 2003.

VÁZQUEZ M.; LUIS L. Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical. **Manejo Integrado de Plagas**, 2002, v. 66, p. 82-95.

VAZQUEZ, L.; MURGUIDO, C.; ELIZONDO, A.; ELOSEGUI, O.; MORALES, F. **Control biológico de la mosca-blanca *Bemisia tabaci***. CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 2007. p. 100-200

VENDRAMIM, J. D.; SOUZA, A. P.; ONGARELLI, M. G. Comportamento de oviposição da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 1, p. 126-132, 2009.

VICENTINI, S.; FARIA, M.; OLIVEIRA, M. R. V. Screening of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Isolates against nymphs of *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) with description of a new bioassay method. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 97-103, 2001.

VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. C.; BEZERRA, I. C. **Manejo Integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolii***. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997, 12 p.

VILLAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H.; MACEDO, N. Potencial biótico da mosca-branca *Bemisia argentifolii* a diferentes plantas hospedeiras. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 71-79, 2002

WRAIGHT, S. P.; CARRUTHERS, R. I.; BRADLEY, C. A.; JARONSKI, S. T.; LACEY, L. A.; WOOD, P.; GALAINI-WRAIGHT, S. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces spp.* and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*, **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 71, p. 217–226, 1998.

WRAIGHT, S.P.; BRADLEY, C. A. Production, formulation, and application technologies for use of entomopathogenic fungi to control field crop pests. In: Fifth Simposio de Controle Biológico, **Anais: Conferencias e Palestras**. Embrapa-CNPSO, Foz do Iguaçu, Brazil, p. 170-177, 1996.

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

WYCKHUYS. K. A. G.; LU, Y.; MORALES, H.; VAZQUEZ, L. L.; JESUSA, C. L.; LEGASPI, J. C.; ELIOPOULOS, P. A.; HERNANDEZ, L. M. Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. **Biological Control**, v. 65, p. 152-167, 2013.

XIAO, G.; YING, S.H.; ZHENG, P.; WANG, Z.L.; ZHANG, S.; XIE, X.Q.; SHANG, Y.; ST LEGER, R.J.; ZHAO, G.P.; WANG, C. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific reports**. v. 2, p. 483, 2012.

YUAN, L.Z., WANG, S.L., ZHOU, J.C., DU, Y.Z., ZHANG, Y.J., WANG, J.J. Status of insecticide resistance and associated mutations in Q-biotype of whitefly, *Bemisia tabaci*, from eastern China. **Crop Protection**, v. 31, p. 67–71, 2012.

ZHANG, Y.J.; FENG, M.G.; FAN, Y.H.; LUO, Z.B.; YANG, X.Y.; WU, D.; PEI, Y. A cuticle-degrading protease (CDEP-1) of *Beauveria bassiana* enhances virulence. **Biocontr. Biocontrol Science and Technology**, v. 18, n. 6, p. 551-553, 2008.

ZHENG, P.; XIA, Y.L.; XIAO, G.H.; XIONG, C.H.; HU, X.; ZHANG, S.W.; ZHENG, H.J.; HUANG, Y.; ZHOU, Y.; WANG, S.Y. Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional chinese medicine. **Genome biology**, v. 12, v. 12, p. 116, 2011.