

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

**AVALIAÇÃO DE PRODUTOS COMERCIAIS DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DO PSILÍDEO-DE-
CONCHA *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)**

MÁRIO HENRIQUE FERREIRA DO AMARAL DAL POGETTO

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU
Fevereiro – 2009

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

**AVALIAÇÃO DE PRODUTOS COMERCIAIS DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DO PSILÍDEO-DE-
CONCHA *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)**

MÁRIO HENRIQUE FERREIRA DO AMARAL DAL POGETTO

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU

Fevereiro – 2009

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

D136a Dal Pogetto, Mário Henrique Ferreira do Amaral, 1981-
Avaliação de produtos comerciais de fungos entomopatogênicos no controle do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) / Mário Henrique Ferreira do Amaral Dal Pogetto - Botucatu : [s.n.], 2009.

v, 90 f. : il., color., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2009

Orientador: Carlos Frederico Wilcken

Inclui bibliografia

1. Eucalipto. 2. Pragas - Controle biológico. 3. Inseticidas biológicos .I. Wilcken, Carlos Frederico. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: "AVALIAÇÃO DE PRODUTOS COMERCIAIS DE FUNGOS ENTOMOPATO-
GÊNICOS NO CONTROLE DO PSILÍDEO-DE-CONCHA Glycaspis brim-
blecombei (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)"**

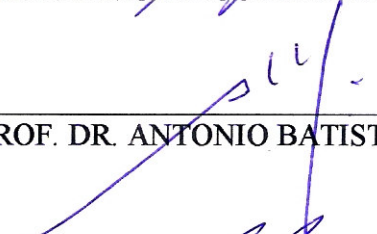
ALUNO: MÁRIO HENRIQUE FERREIRA DO AMARAL DAL POGETTO

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS FREDERICO WILCKEN

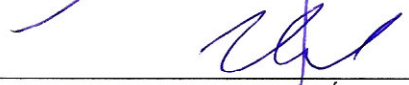
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. CARLOS FREDERICO WILCKEN



PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO



PROF. DR. LUIS GARRIGÓS LEITE

Data da Realização: 13 de fevereiro de 2009.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois não há como superar os desafios que a vida nos apresenta sem contar com sua presença entre nós.

A minha mulher, companheira e amiga Máira Rodrigues Baldin, pela paciência e dedicação, e por tornar minha vida mais cativante, sendo motivo de meus esforços para a superação de qualquer desafio.

Aos meus pais, que sempre apoiaram minhas decisões e contribuíram com todas as minhas realizações.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken, pela amizade e pelos ensinamentos transmitidos, ao qual atribuo todo o conhecimento adquirido nestes anos de convivência.

Aos amigos, Rafael de Souza Christovam, Evandro Pereira Prado, Hélio de Oliveira Aguiar Júnior, Pedro José Ferreira Filho, Alexandre Coutinho Vianna Lima, Daniel Dias Rosa e Marco Antônio Basseto pelo companheirismo e ajuda na execução deste trabalho.

Aos docentes, funcionários e estagiários do Departamento de Produção Vegetal – Defesa Fitossanitária pela amizade e colaboração.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento/CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos, que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO	1
SUMMARY	3
1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 Aspectos taxonômicos, morfologia externa e bioecologia de <i>Glycaspis brimblecombei</i>	8
2.2 Danos provocados por <i>Glycaspis brimblecombei</i>	10
2.3 Métodos de controle de <i>Glycaspis brimblecombei</i>	11
2.3.1 Controle químico	11
2.3.2 Controle cultural	12
2.3.3 Controle biológico	13
2.3.3.1 Predadores e parasitóides	13
2.3.3.2 Fungos entomopatogênicos	14
2.4 Utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas.....	15
2.4.1 <i>Beauveria bassiana</i>	15
2.4.2 <i>Metarhizium anisopliae</i>	17
2.4.3 <i>Lecanicillium longisporum</i>	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Criação de <i>Glycaspis brimblecombei</i> em laboratório.....	20
3.2 Micoinseticidas utilizados	21
3.3 Patogenicidade dos inseticidas biológicos às ninfas de <i>Glycaspis brimblecombei</i> em laboratório.....	22
3.3.1 Deposição de conídios	25
3.3.2 Análise dos dados	26
3.4 Eficiência dos inseticidas biológicos no controle de ninfas de <i>Glycaspis brimblecombei</i> em condições de semicampo	26
3.4.1 Deposição de conídios	29
3.4.2 Análise dos dados	29
3.5 Desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos sobre ninfas de <i>Glycaspis brimblecombei</i>	30

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 Patogenicidade dos inseticidas biológicos às ninfas de <i>Glycaspis brimblecombei</i> em laboratório.....	31
4.1.1 Deposição de conídios	45
4.2 Eficiência dos inseticidas biológicos sobre as ninfas de <i>Glycaspis brimblecombei</i> em condições de semicampo	49
4.3 Desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos sobre ninfas de <i>Glycaspis brimblecombei</i>	57
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
6 CONCLUSÕES	72
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de controle de alguns produtos comerciais de fungos entomopatogênicos disponíveis no mercado, bem como o desenvolvimento dos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Lecanicillium longisporum* sobre ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae). Para tanto, foram realizados ensaios em laboratório com pulverização de suspensões fúngicas de 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL dos bioinseticidas Boveril WP, Toyobo e Mycotrol (*B. bassiana*), Metarril WP e Toyobo (*M. anisopliae*) e Vertirril WP (*L. longisporum*) nas ninfas do inseto. Nos bioensaios de semicampo estes produtos foram aplicados na forma pulverizada e polvilhada sobre mudas infestadas por ninfas de *G. brimblecombei*. As avaliações para o bioensaio de laboratório foram realizadas aos um, três, cinco e sete dias após a pulverização, enquanto no ensaio de semicampo as avaliações foram realizadas apenas sete dias após a aplicação dos produtos. O desenvolvimento dos fungos sobre os insetos foi avaliado mediante a observação dos insetos em microscópio óptico a 0, 24, 48, 72 e 148 horas após a aplicação dos fungos. No bioensaio de laboratório os produtos que apresentaram as maiores mortalidades na maior concentração foram *L. longisporum* (Vertirril WP), *B. bassiana* (Mycotrol e Boveril WP) e *M. anisopliae* (Metarril WP), com mortalidades acima de 70%. As maiores porcentagens de mortalidade confirmada foram observadas para os tratamentos com maior porcentual de mortalidade total, destacando-se o produto Mycotrol que

obteve 70% dos indivíduos esporulados nas concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL. Em semicampo os produtos *M. anisopliae* (Metarril WP) aplicado em pulverização e *M. anisopliae* e *B. bassiana* (Toyobo) aplicados em polvilhamento apresentaram eficiência em torno de 70%. Na avaliação do ciclo biológico dos fungos sobre as ninfas de *G. brimblecombei*, todos os fungos apresentaram conidiogênese, finalizando seu ciclo sobre o hospedeiro 144 horas após a contaminação.

Palavras-chave: *Glycaspis brimblecombei*, *Eucalyptus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium longisporum*, controle biológico, bioinseticidas.

EVALUATION OF COMMERCIAL PRODUCTS OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ON REDGUM LERP PSYLLID *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) CONTROL. 2009. 90p. Dissertation (Master Degree in Agronomy – Plant Protection) – Faculty of Agronomic Sciences – São Paulo State University (UNESP)

Author: MÁRIO HENRIQUE FERREIRA DO AMARAL DAL POGETTO

Adviser: CARLOS FREDERICO WILCKEN

SUMMARY

This study aimed to evaluate the potential control of some commercial entomopathogenic fungi products available in the market and the development of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Lecanicillium longisporum* on nymphs of *Glycaspis brimblecombei*. The insecticides Boveril WP, Toyobo and Mycotrol (*B. bassiana*), Metarril and Toyobo WP (*M. anisopliae*) and Vertirril WP (*L. longisporum*) were tested in laboratory spraying fungal suspensions with 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 and 1×10^8 conidia/mL on insect nymphs. In the semi field bioassays, these products were used in dust and sprayed forms on plants infested by nymphs of *G. brimblecombei*. The evaluations in laboratory bioassay were made at one, three, five and seven days after spraying, and semi field test the assessments were carried out seven days after products application. The fungi development on insects was evaluated by observing of nymphs in optical microscope at 0, 24, 48, 72 and 148 hours after application. In laboratory bioassay the bioinsecticides had highest mortality in highest concentration were *L. longisporum* (Vertirril WP), *B. bassiana* (Mycotrol and Boveril WP) and *M. anisopliae* (Metarril WP), with mortality rates above 70%. The highest percentages of confirmed mortality were obtained in most effective treatments, especially to Mycotrol which obtained 70% of individuals sporulated at concentrations of 1×10^6 , 1×10^7 and 1×10^8 conidia/mL. In semi field bioassay, *M. anisopliae* (Metarril WP) applied in spraying and *M. anisopliae* and *B. bassiana* (Toyobo) applied in dusting obtained efficiency around 70%. In

assessment of the fungi biological cycle on nymphs of *G. brimblecombei*, all fungi showed conidiogenesis 144 hours after the contamination, concluding their cycle on the host.

KEYWORDS: *Glycaspis brimblecombei*, *Eucalyptus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium longisporum*, biological control, bioinsecticide.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil detém uma das maiores áreas de reflorestamentos do mundo, com aproximadamente seis milhões de hectares, com plantios constituídos basicamente pelos gêneros de *Pinus* e *Eucalyptus* (ABRAF, 2008). Este crescimento é devido, sobretudo, a crescente demanda de madeira, como fonte energia e para a produção de celulose. Neste contexto, o eucalipto desponta como gênero promissor dentre os plantios comerciais de espécies florestais atribuído, principalmente, ao seu reduzido tempo de crescimento e qualidade da matéria-prima.

Entretanto, pela homogeneidade e extensão da área plantada, a cultura propicia diversos fatores limitantes ao seu desenvolvimento, como o estabelecimento de espécies de insetos-praga nativos, como lagartas e formigas cortadeiras (SANTOS, 1986).

Relativamente, além dos problemas com pragas nativas, as introduções de pragas exóticas também proporcionam sérios riscos à cultura, tendo como exemplo a broca-do-eucalipto *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae) e os besouros desfolhadores *Gonipterus scutellatus* e *G. gibberus* (Coleoptera: Curculionidae). Entretanto, os danos apresentados são considerados reduzidos, devido a fatores como ocorrência de inimigos naturais que provavelmente foram introduzidos junto com a praga ou porque as espécies de eucalipto encontradas no país não eram suscetíveis às pragas, evitando o aumento de suas populações (WILCKEN et al., 2003).

Contudo, este quadro foi alterado devido a recente introdução do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae), encontrado pela primeira vez no município de Mogi-Guaçu, SP, oferecendo grande potencial de destruição aos povoamentos de eucalipto, como verificado nos Estados Unidos e México (WILCKEN et al., 2003; DAHLSTEN et al, 2003).

Atualmente, a principal forma de controle desta praga é através de seu parasitóide específico *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), com criação deste inseto em laboratório e realização de liberações nas áreas atacadas. Porém, em algumas regiões do país, este agente de controle não tem conseguido se estabelecer, como nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, aparentemente por falta de adaptação do inseto às condições locais (WILCKEN, 2008)¹.

Nesse contexto, a busca por medidas alternativas de controle que mantenham o propósito de menor impacto ao meio ambiente torna-se imperiosa, abrindo oportunidades para pesquisas e uso de outras táticas de controle biológico.

Os trabalhos com controle microbiano relacionado a esta praga são escassos, necessitando estudos mais aprofundados sobre a eficiência de microrganismos entomopatogênicos para seu controle, sendo de extrema relevância pesquisas com patógenos que já sejam comercializados, o que pode proporcionar resultados práticos e de pronto uso. Neste caso, os fungos consistem, atualmente, em uma das mais importantes ferramentas do manejo de pragas na agricultura por serem frequentemente encontrados atacando insetos (SILVA, 2001).

Os micoinseticidas podem ser empregados de diversas formas em programas de controle de pragas, através de liberações de insetos infectados, utilização de iscas atrativas inoculadas ou de forma inundativa, através de pulverizações. Segundo Wright (1993) micoinseticidas aplicados em pulverização podem apresentar eficiência semelhante ou pouco inferior aos inseticidas químicos.

Neste sentido, devido à grande extensão da área plantada com eucalipto no país, os surtos de pragas são cada vez mais frequentes e, conseqüentemente,

¹ WILCKEN, C.F. Comunicação pessoal, 2008.

torna-se imprescindível o registro de produtos específicos que reduzam tais problemas. Entretanto, as pressões ambientalistas para o uso cada vez mais restrito de produtos químicos viabilizam ainda mais a utilização de bioinseticidas, que, além de possuírem especificidade de controle, não exercem danos ao meio ambiente. No Brasil, foi aprovada a Portaria 226 de 22/04/2005 de registro de inseticidas à base de *Beauveria bassiana* para uso em caráter emergencial no controle de *Gonipterus scutellatus* na cultura do eucalipto (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2005).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de controle que algumas formulações comerciais de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Lecanicillium longisporum* podem oferecer no controle do psilídeo-de-concha em bioensaios de laboratório e semicampo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos taxonômicos, morfologia externa e bioecologia de *Glycaspis brimblecombei*

O psílideo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* Moore pertence à ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha e família Psyllidae. São insetos de corpo pequeno com aproximadamente 2 mm de comprimento, semelhantes a pequenas cigarrinhas, com pernas posteriores saltatórias e antenas bem desenvolvidas. O gênero *Glycaspis* possui 127 espécies e a maioria delas alimenta-se de seiva do floema das plantas de eucalipto (HALBERT et al., 2001), sendo *G. brimblecombei* um inseto fitófago succívoro exclusivo de eucalipto (WILCKEN et al., 2003).

As ninfas de *G. brimblecombei* apresentam cinco ínstaes e são achatadas dorsoventralmente, sua cor varia desde amarelo nos três primeiros ínstaes a amarelo – alaranjado ao verde nos dois últimos ínstaes e as tecas alares apresentam coloração escura (CIBRIAN – TOVAR et al., s.d.). A principal característica das ninfas deste inseto é presença de pequenos cones brancos na superfície das folhas que são formados pela excreção do inseto (HALBERT et al, 2001), sendo feitas basicamente de ceras e açúcares, além de abrigarem as ninfas até a fase adulta (SANCHEZ, 2003).

Esta concha também serve de proteção contra predadores e perda de água pelas ninfas, motivado pelo formato achatado do corpo do inseto que facilita o processo de desidratação (HODKINSON, 1974). A construção da concha é realizada pelo acúmulo de excrementos do inseto em alguns pontos, formando inicialmente arcos, os quais são posteriormente preenchidos até adquirirem o formato cônico (FAVARO, 2006a).

Os adultos de *G. brimblecombei* se diferenciam das demais espécies de psilídeo por apresentarem projeções que saem da parte anterior da cabeça, chamadas de cones genais providas de um tufo de cerdas no ápice (DAHLSTEN et al., 2003; FAVARO, 2006a). Sua reprodução se dá de forma sexuada, sendo as fêmeas de coloração verde a vermelho e os machos com coloração variando do verde ao café, podendo adquirir, também, tonalidades vermelhas. As antenas são filiformes com 10 segmentos e a parte terminal do abdome é arredondada e possui uma protuberância por onde são colocados os ovos. Os machos possuem uma estrutura na parte superior de seu abdome chamada “fórceps” que servem para imobilizar a fêmea na hora da cópula, além de apresentarem menor tamanho que as fêmeas (CIBRIAN – TOVAR et al., s.d.).

As fêmeas ovipositam em folhas abertas e os ovos são dispostos em linha, individualizados ou agrupados. Os ovos possuem coloração alaranjada e são fixados na superfície do limbo foliar por um pedúnculo (CIBRIAN – TOVAR et al., s.d.).

Firmino (2004) estudou a biologia de *G. brimblecombei* sob diferentes temperaturas em diferentes espécies de eucalipto e constatou que as temperaturas de 22°C e 26°C oferecem condições favoráveis ao seu desenvolvimento e que as temperaturas de 18°C e 30°C são limitantes. Neste mesmo estudo, Firmino (2004) criando ninfas de *G. brimblecombei* em folhas de *E. camaldulensis* com temperatura de 26°C e fotofase de 12 horas verificou que a duração média do estágio ninfal foi de 14,2 dias. Os adultos criados nas mesmas condições obtiveram longevidade de 8,4 dias, enquanto que o período embrionário teve duração média de 7,9 dias. O ciclo total, observado da eclosão das ninfas até a morte dos adultos, obteve duração média de 22,7 dias. No mesmo trabalho foi observado também que as espécies mais favoráveis ao desenvolvimento de *G. brimblecombei* foram *E. camaldulensis*, *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. tereticornis* e o híbrido *E. grandis* e *E. urophylla*, sendo o *E. camaldulensis* a mais adequada.

A época de ocorrência desta praga está associada aos índices pluviométricos, sendo sua população maior nos meses mais secos, com significativa redução

nos meses mais chuvosos do ano (RAMIREZ et al., 2002). Entretanto, no Brasil, Ferreira Filho et al. (2008), estudando a flutuação populacional desta praga em função da precipitação pluviométrica e temperatura, concluiu que a população de *G. brimblecombei* possui correlação inversamente proporcional com a temperatura, atingindo picos maiores de infestação nos meses de inverno.

2.2 Danos provocados por *Glycaspis brimblecombei*

Os principais danos causados por espécies de psílídeos em culturas agrícolas são caracterizados pelo murchamento e enrolamento do limbo foliar, com secamento e queda das folhas, devido ao hábito sugador da praga. A fumagina, fungo saprófita que se alimenta dos excrementos açucarados do inseto, se estabelece principalmente nas conchas construídas pelas ninfas de *G. brimblecombei* e no “honeydew” que escorre pelas folhas quando ocorrem altas infestações da praga formando uma camada escura sobre as folhas das plantas diminuindo sua taxa fotossintética (GALLO et al., 2002; DREISTADT & DAHLSTEN, 2001).

Como já foi constatado por Dahlsten et al. (2003) e Wilcken et al. (2003), o psílídeo-de-concha causa danos consideráveis aos plantios de eucalipto, principalmente nas espécies de *E. camaldulensis* e *E. tereticornis*, admitidas como altamente suscetíveis (FERREIRA FILHO et al., 2004).

Os psílídeos do gênero *Glycaspis* se caracterizam por causar descoloração das folhas, redução da área fotossintética das plantas, redução no crescimento e seca dos ponteiros (CARNE & TAYLOR, 1984). Nesse sentido, altas infestações podem ocasionar queda de folhas, redução no crescimento e a morte da planta (RAMIREZ, 2003).

Gill (1998) constatou que ataques severos de *G. brimblecombei* podem ocasionar perdas de grande proporção, com 15% de mortalidade de plantas no primeiro ano e até 40% no segundo ano, caso não sejam adotadas medidas de controle.

No Brasil os problemas com esta praga vêm se agravando, sobretudo pela sua alta capacidade de dispersão e pelas grandes extensões das áreas plantadas com

eucalipto no país, compreendidas entre o Rio Grande do Sul e o Amapá e entre Mato Grosso do Sul e Espírito Santo (WILCKEN et al., 2003).

2.3 Métodos de controle de *Glycaspis brimblecombei*

2.3.1 Controle químico

São poucos os trabalhos sobre o controle químico desta praga. Na Austrália, país de origem deste inseto, não há a necessidade de controle da grande maioria das espécies de psílídeos, pois se encontram em equilíbrio com inimigos naturais e apenas as espécies do gênero *Cardiaspina* são consideradas pragas, porém secundárias (PHILLIPS, 1992).

Nos Estados Unidos e México, onde ocorrem infestações significativas desta praga o controle químico é pouco usado, devido ao caráter paisagístico dos plantios de eucalipto e, principalmente, por se situarem em áreas urbanas. Além disso, pela característica das ninfas deste inseto em formar conchas para sua proteção, os inseticidas de contato se tornam menos adequados, pois teriam ação maior sobre adultos, eventualmente sobre ovos ou ninfas que estiverem fora da concha, tendo sua eficiência significativamente diminuída (GARRISON, 1998).

Existem vários inseticidas de ação sistêmica efetivos no controle do psílídeo-de-concha (DREISTADT et al., 2001), porém, sua aplicação não é sustentável sendo considerada apenas como medida de controle em curto prazo e de pequena escala das populações da praga.

Dahlsten et al. (2003) recomendam o uso de inseticidas sistêmicos como imidacloprid, aplicado de preferência no solo sob a copa das árvores, uma vez ao ano antes das chuvas para facilitar a absorção pelas raízes.

A eficiência destes inseticidas no controle de *G. brimblecombei* foi estudada por Young (2002) que realizou micro injeções de imidacloprid, metil-oxidemeton e uma mistura de ambos, em árvores de *E. camaldulensis* com aproximadamente 20 anos de idade sob ataque severo da praga. Após 15 meses, as menores populações da praga foram

obtidas com os tratamentos imidacloprid e sua mistura com metil-oxidemeton. Contudo, a variação na população das ninfas foi muito alta, não permitindo detectar diferenças significativas entre os tratamentos.

No Brasil, em plantio comercial do híbrido de eucalipto *E. urophylla* x *E. grandis* (urograndis) naturalmente infestado por *G. brimblecombei*, Dal Pogetto et al. (2008a) realizaram a aplicação aérea de imidacloprid em forma pulverizada obtendo eficiência de 63% no controle da praga, diferindo significativamente da testemunha. Anteriormente, Ferreira Filho et al. (2004), através da pulverização deste mesmo ingrediente ativo, obteve eficiência de controle superior a 80%.

2.3.2 Controle cultural

É necessário adotar práticas de manejo adequadas das árvores infestadas por *G. brimblecombei* estressadas pela desfolha causada pelos psíldeos, visto que em experiências anteriores com insetos sugadores, a irrigação excessiva e adubação nitrogenada aumentaram o alimento disponível e também sua qualidade, tornando as árvores mais atrativas ao inseto (HODDLE et al., 2003).

Garrison (1998) e Dahlsten et al. (2003) desaconselham a adubação de árvores infestadas por *G. brimblecombei*, pois o nitrogênio aumenta a reprodução e sobrevivência do psíldeo.

Dal Pogetto et al. (2006), estudando a biologia de *G. brimblecombei* em mudas de *E. camaldulensis* adubadas com diferentes níveis de nitrogênio e potássio, observaram que insetos nutrindo-se de plantas submetidas a altas doses de nitrogênio, o período ninfal do inseto diminuiu e a longevidade dos adultos aumentou, resultando em insetos com maior potencial reprodutivo. A maior longevidade dos adultos proporcionou maior tempo para acasalamento, acarretando em aumento do número de posturas.

Outros tratos culturais também são recomendados, como podas de ramos infestados ou até mesmo o abate de árvores extremamente atacadas, como é realizado no México (DIÁRIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, 2002). Porém, estas medidas são economicamente inviáveis para aplicação nas plantações extensivas de eucalipto no Brasil.

2.3.3 Controle biológico

2.3.3.1 Predadores e parasitóides

Na Austrália são relatados diversos predadores generalistas que desempenham papel fundamental na regulação da população de *G. brimblecombei*, como larvas da mosca sirfídea (Diptera: Syrphidae), larvas do bicho-lixo (Neuroptera: Chrysopidae) e as joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae) (WILCKEN et al., 2003).

No Brasil foram encontradas algumas espécies destes predadores generalistas como larvas de crisopídeos, sirfídeos e de coccinelídeos (*Cycloneda sanguinea*) (WILCKEN et al., 2003). Porém, estes insetos são considerados pouco eficientes, pois eles não são adaptados a perfurarem ou removerem a concha que protege as ninfas de *G. brimblecombei* (DAHLSTEN et al., 2003).

Nos Estados Unidos foi realizada a importação de oito espécies de parasitóides da Austrália para o controle do psilídeo-de-concha, obtendo êxito apenas a espécie *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae), a qual se estabeleceu no campo e tem controlado a praga com resultados satisfatórios na Califórnia e México (PAINE et al., 2000).

No Brasil este parasitóide foi detectado praticamente logo após a introdução da praga (BERTI FILHO et al., 2003), e se caracteriza por ser o seu inimigo natural específico e altamente dependente da população da praga. A principal característica deste parasitóide baseia-se na sua capacidade de perfurar a concha e depositar seu ovo no interior do abdome da ninfa, causando sua morte ainda na fase jovem.

A efetividade e especificidade deste parasitóide motivaram a criação de programas de controle biológico clássico do psilídeo-de-concha, como vêm sendo feito nos EUA, México, Chile (CHAUZAT et al., 2002; DAHLSTEN et al., 1998; PAINE et al., 2000) e Brasil.

Foi observado também que há forte sincronismo da população deste parasitóide com a população da praga no campo, atingindo correlações entre 76% (LIMA et al., 2005) e 86,1% (DAL POGETTO et al., 2005), além da alta taxa de parasitismo que, em alguns casos, pode chegar a 80% (IÑIGUEZ-HERRERA, 2001).

No Brasil, o parasitóide *P. bliteus* é criado no Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais da FCA/UNESP – Campus de Botucatu e no Laboratório de Quarentena “Costa Lima” da EMBRAPA – Meio Ambiente – Jaguariúna para o controle biológico de *G. brimblecombei*, realizado com liberações inoculativas deste parasitóide em áreas de plantios comerciais de eucalipto.

2.3.3.2 Fungos entomopatogênicos

Resultados sobre controle microbiano do psilídeo-de-concha são escassos na literatura, necessitando estudos mais aprofundados sobre a eficiência de microrganismos entomopatogênicos em seu controle, sobretudo pelo grande potencial de dano que esta praga causa e a extensão dos plantios com eucalipto no Brasil. Nesse sentido, pesquisas com patógenos que já sejam comercializados são de extrema relevância, pois poderão gerar resultados práticos e de pronto uso.

Em testes realizados em laboratório com mudas de *E. camaldulensis* infestadas com ninfas de *G. brimblecombei*, a aplicação de forma tanto pulverizada quanto polvilhada do fungo *Beauveria bassiana* apresentaram alta eficiência no controle da praga (WILCKEN et al., 2007; DAL POGETTO et al., 2008).

Ainda em laboratório, Favaro (2006a) pulverizando suspensões fúngicas de isolados de *Lecanicillium lecanii* e *B. bassiana* em mudas de *E. camaldulensis* infestadas com ninfas de 5º ínstar de *G. brimblecombei*, obteve mortalidade de 80% e 81% para cada isolado, respectivamente.

Favaro et al, (2006b) em testes de campo, avaliou a eficiência de *B. bassiana* e *L. lecanii* aplicados via pulverização de suspensão conidial em plantas de *E. camaldulensis* infestadas com *G. brimblecombei*, obtendo redução de cerca de 90% da população com ambas espécies de fungos.

Em contrapartida, testes realizados com aplicação aérea de *B. bassiana* em plantio do híbrido de eucalipto *E. urophylla* e *E. grandis* (urograndis) Dal Pogetto et al. (2008a) obteve eficiência em torno de 50% no controle de *G. brimblecombei*. Porém, a baixa eficiência obtida pode ter sido ocasionada pelas condições ambientais e do local, visto que o

ensaio foi conduzido no centro-oeste do estado de Minas Gerais nos meses mais secos do ano que é a principal época de ocorrência do psílídeo.

2.4 Utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas

O controle microbiano de pragas consiste, atualmente, em uma das mais importantes ferramentas do manejo de pragas na agricultura, destacando-se principalmente os fungos por serem frequentemente encontrados atacando insetos (SILVA, 2001).

Atualmente são conhecidas aproximadamente 750 espécies e 85 gêneros de fungos considerados importantes como reguladores biológicos (PUTZKE & PUTZKE, 1998).

Os fungos são patógenos com amplo espectro de ação, podendo atacar insetos nos mais diferentes habitats, causando epizootias. Alguns são virulentos e a grande maioria é especializada na penetração via tegumento do hospedeiro, podendo atuar também por outras vias (ALVES, 1998).

2.4.1 *Beauveria bassiana*

É a espécie de fungo mais freqüentemente encontrada sobre insetos e em amostras de solo, onde pode subsistir por longo tempo em saprogênese. Em condições de laboratório pode colonizar um grande número de insetos e em campo pode ocorrer de forma enzoótica e epizoótica em coleópteros, lepidópteros, hemípteros, entre outros (ALVES, 1998).

A produção de esporos ou conídios por hifomicetos entomopatogênicos são geralmente responsáveis pela dispersão da doença e infecção de hospedeiros no ambiente. A adesão do conídio, seguido pela sua germinação, é a primeira etapa para o estabelecimento de infecções de insetos terrestres pela maioria dos fungos entomopatogênicos, incluindo *B. bassiana* (TALAEI – HASSANLOUI et al., 2007).

Entretanto, demais fatores estão relacionados à germinação e crescimento de *B. bassiana*, como exigências nutricionais a partir de fontes de carbono, nitrogênio, glucose e quitina, indispensáveis para o crescimento e formação das estruturas de penetração do fungo (SMITH & GRULA, 1981; ALVES, 1998).

A fase de penetração do fungo ocorre normalmente pelo tegumento, a partir da germinação, por ação mecânica e efeitos enzimáticos, com duração entre 12 e 18 horas. Após 72 horas da inoculação, o inseto apresenta-se colonizado com uma grande quantidade de conidióforos e conídios. Entretanto, para aumentar a capacidade de disseminação dos propágulos, são necessárias algumas condições favoráveis, destacando-se a temperatura, umidade relativa e radiação solar (ALVES, 1998).

Sósa-Gomez & Alves (2000) relataram que a conidiogênese de *B. bassiana* ocorreu em diferentes hospedeiros com umidade relativa entre 75% e 100%. Outra importante condição para infecção é a idade dos insetos, pois nem todos os estágios de desenvolvimento são igualmente suscetíveis à infecção. O estágio de pupa, geralmente é o que oferece maior resistência, enquanto adultos podem ser mais vulneráveis (BUTT & GOETTEL, 2000), além da variação da infecção inclusive com insetos adultos de sexos diferentes ou formas, como afídeos alados e ápteros (OGER & LATTEUR, 1985).

Este fungo se tornou conhecido internacionalmente através do produto Boverin, formulado e amplamente utilizado pela ex-União Soviética em 1970 para o controle do besouro-do-colorado, *Leptinotarsa decemlineata* (IGNOFFO et al., 1975).

Nos Estados Unidos várias formulações de fungos entomopatogênicos têm sido testadas com sucesso no controle do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, tanto em laboratório (WRIGHT & CHANDLER, 1991) quanto no campo (FRANK & SLOSSER, 1990; WRIGHT & CHANDLER, 1992). No Brasil o potencial de *B. bassiana* para o controle de *A. grandis* já foi demonstrado por Coutinho & Cavalcanti (1988) e Coutinho & Oliveira (1991).

A aplicação inundativa de *B. bassiana* através de formulações na cultura do milho mostrou-se eficiente em longo prazo, interferindo na reinfestação de larvas de *Ostrinia nubilalis* (ANDERSON & LEWIS, 1991), além de apresentar níveis de seletividade a outros organismos benéficos (GOETTEL et al., 1990).

Este fungo também tem sido amplamente estudado para o controle do cupim de montículo, apresentando alta eficiência e se tornando uma alternativa ecológica e econômica no controle desta praga (ALVES, 1998).

Para a cultura do eucalipto, a Portaria 226 de 22/04/2005 do MAPA autorizou o uso dos inseticidas à base de *Beauveria bassiana* para controle em caráter emergencial gorgulho-do-eucalipto, *Gonipterus scutellatus* (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2005).

Atualmente a produção de micoinseticidas a base de *B. bassiana* é realizada no mundo inteiro e utilizada para o controle de diversas pragas. Na França, uma das formulações comerciais deste fungo recebe o nome de Naturalis, enquanto nos Estados Unidos um dos produtos mais conhecidos é o Mycotrol (GLARE, 2004).

No Brasil existem diversas empresas que produzem e comercializam estes produtos em diferentes tipos de formulações como Boveril, Boveriol, Toyobo, entre outras, em forma líquida (oleosa), pó (arroz triturado + fungo), conídios puros e arroz inteiro (GALLO et al., 2002).

2.4.2 *Metarhizium anisopliae*

M. anisopliae constitui outra espécie de fungo muito pesquisada e amplamente utilizado no controle de pragas, atacando naturalmente mais de 300 espécies de insetos, que se tornam mumificados, com o cadáver podendo apresentar colorações entre o verde claro e escuro, acinzentados ou esbranquiçados (ALVES, 1998).

Na fase parasitária, a infecção por *M. anisopliae* se inicia a partir da adesão, germinação do esporo e formação de estruturas de penetração denominadas apressórios e grampo de penetração (FERRON, 1978). Essas estruturas facilitam a penetração do fungo no hospedeiro através de processos mecânicos e enzimáticos.

A etapa compreendida entre a germinação do conídio e a penetração no tegumento do inseto tem duração entre dois a três dias. A colonização varia de dois a quatro dias e a esporulação ocorre em mais dois ou três dias, dependendo das condições de temperatura e umidade do ambiente. O ciclo total da doença pode variar entre oito a dez dias.

O cadáver do inseto apresenta crescimento micelial branco sobre o corpo, seguido por esporulação de cor verde (ALVES, 1998). Esta exteriorização de hifas e formação dos conídios e conidióforos, juntamente com a disseminação destas estruturas reinicia o ciclo do patógeno (ZACHARUK, 1970; LIMA & TIGANO, 1989).

No Brasil este fungo assume grande importância por ter sido empregado em um projeto de controle biológico de bastante sucesso, com a aplicação deste patógeno em condições de campo para o controle da cigarrinha da cana-de-açúcar, *Mahanarva posticata* e *M. fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) (FERRON, 1981; ALVES, 1998; FARIA & MAGALHÃES, 2001). Esta espécie infecta outros insetos pragas como *Deois flavopicta* e *Zulia entreriana* (Hemiptera: Cercopidae) (ALVES, 1998), *Glossina* ssp. (Diptera: Glossinidae) (KAYA & MUNYINYI, 1995), *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) (LOPES et al., 2000), *Coptotermes acinaciformes* (Isoptera: Rhinotermitidae) (MILNER et al., 1998), carrapatos (*Boophilus microplus*) (CORREIA et al., 1998), entre outros.

A produção em escala comercial deste fungo ocorre em boa parte do mundo, com destaque para o Brasil, cuja produção comercial se iniciou na década de 70 para atender as usinas de cana-de-açúcar, visando o controle de cigarrinhas (ALVES, 1986; ZIMMERMANN, 1993).

Atualmente, existem no mercado diversas marcas de micoinseticidas a base de *M. anisopliae*, como Metarril, Biotec, Toyobo, Metabiol, Metaquino (Brasil), Metarhizium Schweizer (Suíça), Meta-Sin (México), Bio 1020 (Alemanha), BioGreen (Austrália), Bio-Pat e Bio-Blast (Estados Unidos), comercializados nas mesmas formas descritas no item anterior.

2.4.3 *Lecanicillium longisporum*

A espécie denominada *Verticillium lecanii* foi reclassificada primariamente em *Lecanicillium lecanii* e posteriormente subdividida em três espécies, como *L. lecanii*, *L. longisporum* e *L. muscarium* (HUMBER & HANSEN, 2005).

Lecanicillium é um dos gêneros anamorfos de *Cordyceps* (SAMSOM et al, 1988). Os conídios apresentam-se em massas globosas sobre as fiálides de disposição verticilada, condição que levou a separação do gênero original *Verticillium*, que incluía fito e entomopatógenos (MOLINA, 2007).

Os sintomas da infecção causada por *Lecanicillium* em insetos é caracterizado pelo aparecimento de um halo branco em volta do hospedeiro, que é associado a característica do conidióforo (ALVES, 1998).

Lecanicillium longisporum (= *Verticillium lecanii*) é considerado um dos principais agentes fúngicos no controle microbiano de pragas (LECUONA & RIBA, 1991). Além de sua importância no controle de insetos homópteros, como afídeos, coccídeos e aleirodídeos (KHALIL & TABORSKY, 1982; GRAJEK, 1994), podem causar doença em algumas espécies de ácaros, ser hiperparasito de fungos fitopatogênicos, como vários tipos de ferrugens (CASTALDI & NICOLE, 1993). A espécie *L. lecanii*, também possui igual importância no controle destas pragas (HALL, 1981a).

O ciclo deste gênero de fungo é variável de acordo com as condições ambientais e das características intrínsecas de cada hospedeiro. Em *Orthezia praelonga* (Hemiptera: Ortheziidae) o ciclo total de *L. longisporum*, da inoculação do fungo à conidiogênese ocorreu em torno de dois dias. No ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae), o patógeno *L. muscarium* completou seu ciclo em aproximadamente 3 dias, enquanto que *L. lecanii* este processo precisou de sete dias (MOLINA, 2007).

Existem atualmente diversas marcas comerciais de bioinseticidas formulados com patógenos do gênero *Lecanicillium*. Na Europa o fungo *L. lecanii* vêm sendo bastante utilizado sobre cultivos em casa de vegetação para o controle de hemípteros, na formulações comerciais Vertalec e Mycotol (HALL, 1981b).

No Brasil a formulação de *L. lecanii* é comercializada através da marca Vertinat e a espécie *L. longisporum* através da marca comercial Vertirril WP (MICHEREFF FILHO et al., 2007). O produto Vertirril WP é amplamente utilizado para o controle de cochonilhas e outros insetos sugadores nos pomares de citros do estado de São Paulo, o qual vem apresentando resultados satisfatórios (MOLINA, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação de *Glycaspis brimblecombei* em laboratório

Todos os insetos utilizados no ensaio foram provenientes da criação estoque de psíldeo-de-concha do Laboratório de Controle Biológico de Pragas Florestais da FCA/UNESP – Campus de Botucatu.

A criação de *G. brimblecombei* foi conduzida em sala climatizada com temperatura de 26 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 13 horas, consideradas estas as condições ideais para o desenvolvimento do inseto (FIRMINO, 2004), em gaiolas de criação confeccionadas em madeira revestidas com tecido tipo “voil”, com dimensão de 80 x 40 x 44 cm.

No interior de cada gaiola foi colocada uma bandeja plástica para colocação dos tubetes contendo mudas de *E. camaldulensis* com aproximadamente 50 cm de altura. Em cada gaiola foram colocadas de 10 a 12 mudas, dependendo da quantidade de folhas de cada uma (Figura 1).

As gaiolas foram acomodadas em prateleiras de metal com capacidade para quatro unidades, com uma divisória horizontal no centro. Cada prateleira foi provida de duas lâmpadas fluorescentes de luz branca e uma lâmpada fluorescente de luz de planta (plantlight), ambas de 15 W.

No interior das gaiolas foram liberados entre 60 e 80 insetos adultos do psilídeo-de-concha, provenientes da própria criação, a partir de outras gaiolas com criação já estabelecida ou de espécimes coletados no campo, para evitar problemas de consanguinidade.



Figura 1. Vista geral da gaiola (A), colocação da muda de eucalipto na bandeja (B), disposição das gaiolas nas prateleiras da sala de criação (C) e manejo dos insetos adultos no interior das gaiolas (D).

3.2 Micoinseticidas utilizados

Para a realização dos ensaios foram utilizados produtos biológicos comerciais à base de fungos entomopatogênicos, disponíveis no mercado nacional e importado (Tabela 1).

Tabela 1. Inseticidas à base de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios de controle de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae).

Patógeno	Marca comercial	Concentração	Preparação	Fabricante
<i>Beauveria bassiana</i>	Boveril	$5,0 \times 10^8$ conídios/g	Arroz moído	Itaforte Industrial de BioProdutos Agro-Florestais Ltd.
	s/n	$2,0 \times 10^{10}$ conídios/g	Arroz inteiro	Toyobo do Brasil Ltd.
	Mycotrol	$2,2 \times 10^{13}$ conídios/L	Suspensão oleosa	Mycotech, EUA.
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Metarril	$5,0 \times 10^8$ conídios/g	Arroz moído	Itaforte Industrial de BioProdutos Agro-Florestais Ltd.
	s/n	$4,0 \times 10^9$ conídios/g	Arroz inteiro	Toyobo do Brasil Ltd.
<i>Lecanicillium longisporum</i>	Vertirril	$5,0 \times 10^8$ conídios/g	Arroz moído	Itaforte Industrial de BioProdutos Agro-Florestais Ltd.

s/n: sem nome comercial.

3.3 Patogenicidade dos inseticidas biológicos às ninfas de *Glycaspis brimblecombei* em laboratório

A escolha de ninfas de *G. brimblecombei* para utilização nos bioensaios ao invés de insetos adultos foi motivada pela facilidade de manuseio e pela importância dos danos causados na cultura, sendo superiores aos provocados pelos insetos adultos. Optou-se também, neste caso, pela retirada da concha protetora do inseto, proporcionando a máxima exposição aos produtos. Em contrapartida, para os ensaios de

semicampo as conchas foram mantidas, mantendo a condição natural para verificar a eficiência dos bioinseticidas nas ninfas protegidas.

Folhas infestadas com ninfas do psilídeo-de-concha foram destacadas das mudas de eucalipto da criação e levadas ao microscópio estereoscópico para retirada das conchas e eliminação de ninfas excedentes, mantendo-se ninfas de terceiro e quarto ínstar. Devido ao tipo de aparelho bucal das ninfas, que é muito delicado, optou-se por retirar o número de ninfas excedentes para diminuir o estresse e a possibilidade de morte dos insetos por consequência da transferência para outras folhas.

Posteriormente, estas folhas foram acondicionadas em placas de petri com 90 mm de diâmetro nas quais foi vertida solução contendo gel hidrorretentor (condicionador de solo, marca comercial Hidroplan) na concentração de 5g de produto/L de água, para manter as condições de turgidez da folha durante o período de avaliações. Dessa forma evitou-se a necessidade de transferência das ninfas para folhas novas e a possível morte das mesmas pelo manuseio. Esta técnica foi previamente testada, comprovando não causar efeito negativo sobre o desenvolvimento das ninfas do psilídeo-de-concha (Figura 2).

Para o estabelecimento correto das concentrações dos bioinseticidas, foram realizadas diluições dos produtos em água esterilizada e a inoculação em placas de petri de 90 mm de diâmetro com meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), com as suspensões espalhadas sobre o meio de cultura com o auxílio de uma alça de vidro. Foram inoculadas três concentrações das suspensões fúngicas em dez placas para cada diluição, sendo tampadas e lacradas com filme de PVC e incubadas em BOD (temperatura de 26 ± 1 °C, fotofase de 12 horas). Após 24 horas foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônia de cada produto das três diluições.



Figura 2. Detalhe da placa de petri com solução hidrorretentora e folhas de eucalipto com ninfas de *Glycaspis brimblecombei*.

Este experimento foi composto por 31 tratamentos, distribuídos no esquema fatorial $6 \times 5 + 1$ (6 produtos, 5 concentrações e testemunha), com 4 repetições. Cada repetição foi composta por uma placa de petri com 30 ninfas cada, totalizando 120 ninfas por tratamento. Os micoinseticidas foram pulverizados sobre as placas de petri contendo as folhas infestadas com a praga em torre de Potter, com pressão de 15lb/pol^2 (Figura 3). Foram aplicadas as concentrações de $1,0 \times 10^4$, $1,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^6$, $1,0 \times 10^7$ e $1,0 \times 10^8$ conídios/ml de calda mais espalhante adesivo Tween 20 a 0,02%.

Após a pulverização dos produtos, as placas foram transferidas para bandejas plásticas e acondicionadas em câmara climatizada tipo BOD (temperatura de 26 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

Foi avaliada a mortalidade de ninfas para a determinação da CL_{50} (concentração letal para mortalidade de 50% da população), TL_{50} (tempo letal para mortalidade de 50% da população) e a eficiência de controle (%) da praga.

As avaliações foram realizadas com um, três, cinco e sete dias após a aplicação dos produtos, contabilizando-se o número de insetos mortos. Todos os insetos

mortos foram transferidos para câmara úmida (placa de petri forrada com papel filtro umedecido) para observar a esporulação dos fungos e quantificar a mortalidade confirmada.



Figura 3. Torre de Potter adaptada para aplicação dos bioinseticidas.

3.3.1 Deposição de conídios

Antes de cada pulverização foram colocadas sobre a arena da Torre de Potter quatro lâminas de vidro (25 mm x 75 mm) entre as placas contendo os insetos, para a contagem dos conídios depositados. Após cada pulverização e secagem, as lâminas foram preparadas com adição de uma gota de lacto glicerol e de lamínula para observação em microscópio óptico com aumento de 400x. A contagem do número de conídios foi realizada através da observação de cinco campos ($0,3318 \text{ mm}^2$) aleatórios em cada lâmina (SHI & FENG, 2006), perfazendo 20 avaliações em 31 tratamentos distribuídos no esquema fatorial idêntico ao descrito no item 3.3. Os resultados obtidos foram expressos em número médio de conídios/ mm^2 .

3.3.2 Análise dos dados

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância fatorial e as médias comparadas entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$), com o auxílio do software SISVAR 4.6. A CL_{50} e TL_{50} foram calculados pela análise de Probit (FINNEY, 1964), com o auxílio do software STATPLUS 2007 4.8.0.0.

A deposição dos conídios foi analisada graficamente, através das possíveis correlações do número médio de conídios/mm² com a mortalidade das ninfas.

3.4 Eficiência dos inseticidas biológicos no controle de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* em condições de semicampo

Os produtos foram aplicados de forma pulverizada e polvilhada nas mudas de *E. camaldulensis* infestadas com ninfas do psíldeo-de-concha, provenientes da criação estoque de *G. brimblecombei*. O produto Mycotrol, por sua natureza líquida, foi somente pulverizado. Foram utilizadas duas dosagens de cada produto, objetivando englobar a recomendação do fabricante de cada produto para o controle de outras pragas em outras culturas.

Os tratamentos (Tabela 2) foram distribuídos no esquema fatorial 2 x 2 x 5 + 3 (2 formas de aplicação, 2 concentrações e 5 produtos, mais 2 concentrações do produto Mycotrol aplicado de forma apenas pulverizada e testemunha), com três repetições. Cada repetição foi formada por uma muda de eucalipto infestada pela praga.

Na calda de pulverização foi adicionado espalhante adesivo Tween 20 (0,02%) e no polvilhamento foi utilizado talco industrial como veículo inerte (Chenco – talco neutro), misturado com os entomopatógenos.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos bioinseticidas, com dosagem, forma de aplicação, volume de calda e quantidade de talco/ha.

Patógeno	Marca comercial	Dosagem	Volume de calda/ha (pulverização)	Quantidade de talco/ha ² (polvilhamento)
<i>B. bassiana</i>	Boveril WP	4,0 kg/ha	200 L	6,0 kg
		8,0 kg/ha	200 L	2,0 kg
	(Toyobo) ¹	0,2 kg/ha	200 L	9,8 kg
		0,4 kg/ha	200 L	9,6 kg
	Mycotrol	0,5 L/ha	200 L	-
		1,0 L/ha	200 L	-
<i>M. anisopliae</i>	Metarril WP	4,0 kg/ha	200 L	6,0 kg
		8,0 kg/ha	200 L	2,0 kg
	(Toyobo) ¹	0,5 kg/ha	200 L	9,5 kg
		1,0 kg/ha	200 L	9,0 kg
<i>L. lecanii</i>	Vertirril WP	4,0 kg/ha	200 L	6,0 kg
		8,0 kg/ha	200 L	2,0 kg

¹ - Não possui marca comercial.

² - Volume de talco somado à quantidade de produto equivale a 10 kg de mistura/ha.

A aplicação pulverizada foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Aplicação de Defensivos da FCA/UNESP – Campus de Botucatu, em simulador de pulverizador de barras dotado de pontas de pulverização de jato cônico vazio JA-2 (Figura 4). O polvilhamento foi simulado através do pulverizador/atomizador costal motorizado da marca Jacto S.A. com ventilador de 7000 rpm e vazão de 12,6 m³ de ar. Para tanto, o equipamento foi fixado no solo e as mudas colocadas na frente do canhão atomizador, suportadas por uma bandeja plástica vazada para encaixe dos tubetes (Figura 5). O cálculo para determinar a quantidade de mistura (produto + talco) a ser aplicada foi baseado na quantidade de mistura por planta, considerando-se espaçamento de 3 x 2 m, muito utilizado em plantios de eucalipto.

A quantidade de mistura calculada foi colocada em copos descartáveis e despejada rente a boca do atomizador, no início do turbilhão de ar.

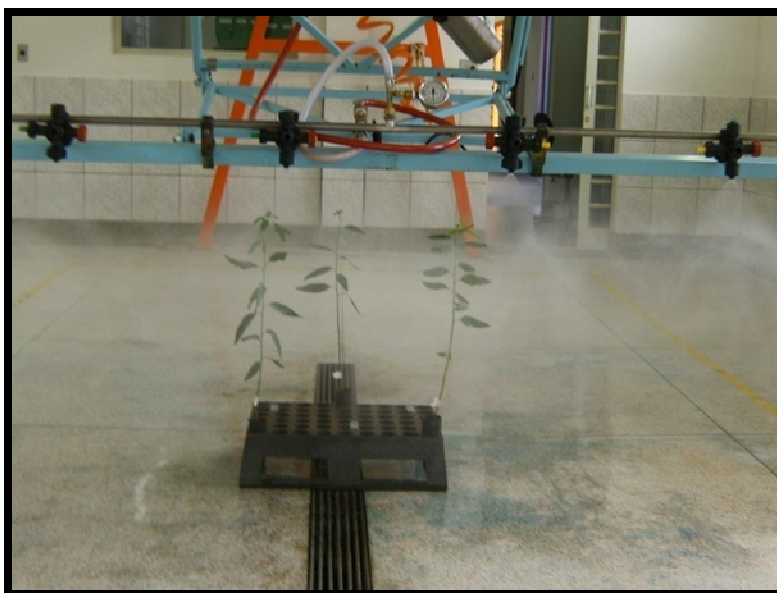


Figura 4. Pulverização das mudas de eucalipto em simulador de pulverizador de barras.



Figura 5. Polvilhamento das mudas de eucalipto com pulverizador/atomizador costal motorizado.

Após a aplicação dos produtos, as mudas foram acondicionadas em casa de vegetação providas de sombrite e janela telada, em condições ambiente, cujas variáveis climáticas foram registradas através de sensor eletrônico.

As avaliações foram realizadas sete dias após a aplicação dos produtos, contabilizando-se o número ninfas de *G. brimblecombei* vivas por planta, avaliando-se a muda inteira.

3.4.1 Deposição de conídios

Neste ensaio a deposição de conídios foi quantificada para ambas as formas de aplicação dos bioinseticidas, conforme metodologia descrita no item 3.3.1, colocando-se as lâminas nos espaços entre as mudas, de forma que não houvesse sobreposição pelas folhas das plantas.

3.4.2 Análise dos dados

A densidade de declínio da população de ninfas de *G. brimblecombei* (D), foi submetida à análise de variância fatorial, sendo todas as médias comparadas pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). A densidade de declínio da população foi obtida pela fórmula de (SHI & FENG, 2006):

$$D (\%) = [(d_i - d_f) / d_i] \times 100$$

onde d_i e d_f são as densidades (nº de ninfas/folha) inicial (antes da pulverização) e final de ninfas do psilídeo-de-concha.

A eficiência dos bioinseticidas foi obtida através da correção do número de ninfas vivas nos tratamentos em relação ao tratamento testemunha (HENDERSON & TILTON, 1955).

Como foram utilizadas dosagens comerciais dos produtos, a deposição dos conídios foi representada graficamente.

3.5 Desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos sobre ninfas de *Glycaspis brimblecombei*

Conforme metodologia descrita no item 3.3, foram separadas 300 ninfas de *G. brimblecombei* entre terceiro e quarto ínstares em 30 placas de petri de 90 mm de diâmetro, e pulverizadas em torre de Potter com suspensões conidiais dos seis bioinseticidas, na concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios/mL, mais adição de Tween 20 (0,02%). Cada tratamento teve cinco repetições, sendo cada repetição formada por uma placa de petri. Após a pulverização todas as placas foram acondicionadas em BOD (temperatura de 26 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

Ao decorrer os intervalos de 0, 24, 48, 72 e 144 horas da pulverização dos conídios, uma placa de petri com 10 ninfas de cada tratamento foi levada ao freezer por aproximadamente 30 minutos para promover a morte dos insetos. Optou-se por colocar a placa inteira no freezer para evitar o contato com os insetos e danos às estruturas dos fungos.

Os insetos mortos foram cuidadosamente retirados das folhas nas placas de petri e colocados em lâminas de vidro (25 mm x 75 mm), com adição de lactoglicerol e lamínula para observação das etapas de crescimento dos fungos nas ninfas (Figura 6). As observações foram realizadas em microscópio ótico com aumento de 400x.



Figura 6. Lâmina com ninfas de *Glycaspis brimblecombei* tratadas com lactoglicerol (direita) e detalhe das ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (esquerda).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Patogenicidade dos inseticidas biológicos às ninfas de *Glycaspis brimblecombei* em laboratório

Todos os produtos testados apresentaram-se patogênicos às ninfas de *G. brimblecombei*. Na maior concentração utilizada, 1×10^8 conídios/mL, todos os produtos apresentaram mortalidade corrigida (ABBOTT, 1925) superior a 50% no último dia de avaliação. Englobando todos os produtos e concentrações, a mortalidade variou de 7,14% à 100% de insetos mortos no sétimo dia de avaliação (Figura 7).

Na maior concentração, as maiores mortalidades corrigidas foram obtidas com os produtos *B. bassiana* (Mycotrol), com 96,94%, *M. anisopliae* (Metarril WP) e *L. lecanii* (Vertirril WP), com 100% de mortalidade dos insetos. Os menores valores de mortalidade foram obtidos por *B. bassiana* (Toyobo) e *M. anisopliae* (Toyobo), com 54,08% e 61,22%, respectivamente, na última avaliação (Figura 7). Entretanto, apenas o tratamento *B. bassiana* (Toyobo) diferiu estatisticamente dos demais quando comparado o número médio de ninfas mortas por repetição (Tabela 3).

Ambos os produtos a base de *M. anisopliae* apresentaram mortalidade satisfatória dos insetos, sendo superior a 60%, diferindo significativamente entre si apenas na terceira avaliação, com 28,8 insetos mortos/repetição de *M. anisopliae* (Metarril WP) contra 11,0 insetos mortos por *M. anisopliae* (Toyobo) (Tabela 3).

Tabela 3. Número médio de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* mortas pela aplicação dos bioinseticidas em função das diferentes concentrações, em cada período de avaliação (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: 70 ± 10% e fotofase: 12 h).

Patógeno	Produtos	1 DAP					3 DAP				
		1 x 10 ⁴	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁷	1 x 10 ⁸	1 x 10 ⁴	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁷	1 x 10 ⁸
<i>B.bassiana</i>	Boveril	1,8 a ¹ A ²	2,0 aA	1,5 aA	1,3 aA	5,0 abA	4,3 aA	4,3 aA	6,5 aAB	5,5 aAB	13,3 abB
	Toyobo	3,0 aA	4,0 aA	3,5 aA	6,5 abA	5,8 abA	8,3 abA	7,8 aA	9,3 aA	9,0 abA	12,3 abA
	Mycotrol	1,5 aA	3,0 aAB	5,8 aAB	4,0 aAB	7,5 abB	6,5 abA	8,5 aA	12,3 aAB	18,0 bcB	21,0 bcB
<i>M.anisopliae</i>	Metarril	3,5 aAB	3,0 aAB	1,0 aA	7,0 abBC	10,3 bC	5,5 abA	3,8 aA	5,5 aA	18,3 bcB	28,8 cC
	Toyobo	4,3 aA	3,5 aA	5,5 aA	3,3 aA	5,5 abA	7,3 abA	8,3 aA	10,0 aA	8,8 abA	11,0 aA
<i>L. longisporum</i>	Vertiril	4,3 aA	4,3 aA	4,0 aA	10,3 bAB	5,8 abB	14,8 bAB	13,0aAB	9,5 aA	18,8 cB	21,0 cB
	Testemunha	2,0 a	2,0 a	2,0 a	2,0 a	2,0 a	4,3 a	4,3 a	4,3 a	4,3 a	4,3 a
CV (%):		32,40					22,21				
DMS prod.:		5,78					9,57				
DMS conc.:		5,34					8,84				

Patógeno	Produtos	5 DAP					7 DAP				
		1 x 10 ⁴	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁷	1 x 10 ⁸	1 x 10 ⁴	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁷	1 x 10 ⁸
<i>B.bassiana</i>	Boveril	6,0 aA	5,8 aA	11,5abAB	11,5abcAB	20,5bcdB	7,3 abA	9,3 abA	15,8bcAB	18,5 bcB	23,3 bcB
	Toyobo	9,8 abA	9,0 aA	10,8 abA	9,8 abA	13,5 abA	10,3abAB	9,8 abA	11,3abAB	10,0abAB	18,8 bB
	Mycotrol	11,5 abA	10,5abA	20,0 bAB	23,0 dB	24,5 cdB	16,5 bcA	18,8bcA	24,0 cAB	27,8 cB	29,3 cB
<i>M.anisopliae</i>	Metarril	7,5 aA	6,5 aA	8,3 aA	21,3 cdB	29,8 dB	10,3 abA	12,0abA	11,0 abA	23,3 cB	30,0 cB
	Toyobo	9,3 abA	10,8abA	20,8 abB	17,8bcdAB	18,5bcAB	9,5 abA	11,3abA	21,5 cB	18,3bcAB	20,5 bcB
<i>L. longisporum</i>	Vertiril	18,5 bA	19,5 bA	19,5 bA	25,5 dA	26,8 cdA	22,8 cA	24,3 cA	21,5 cA	27,8 cA	30,0 cA
	Testemunha	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,5 a	5,5 a	5,5 a	5,5 a	5,5 a
CV (%):		35,10					27,66				
DMS prod.:		10,29					9,60				
DMS conc.:		9,50					8,87				

^{1,2} - Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúscula na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p<0,05).

Na primeira e nas duas últimas avaliações não foi observada diferença entre estes produtos. Gassen (2006), avaliando a patogenicidade de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. lecanii* em insetos adultos do psíldeo-da-goiabeira *Triozoida* sp., obteve 44% de mortalidade na concentrações de 5×10^7 para o fungo *M. anisopliae*. Para o fungo *L. lecanii*, os valores de mortalidade superaram 80%, sendo considerado o fungo mais virulento, corroborando com os resultados obtidos neste estudo, onde *L. longisporum* foi considerado altamente eficiente na mortalidade de *G. brimblecombei*. Já para os produtos à base de *B. bassiana*, os resultados para as marcas Boveril WP e Toyobo apresentaram mortalidades semelhantes aos obtidos por Gassen (2006), exceto para o produto Mycotrol, cujos valores de mortalidade superaram os 90% nas duas maiores concentrações na última avaliação.

A alta virulência dos produtos analisados pode estar relacionada ao grau de exposição das ninfas, por serem menos esclerotizadas do que insetos adultos e se movimentarem menos. A ecdise também pode colaborar com o aumento da suscetibilidade dos espécimes aos entomopatógenos, através da queda do número de oenócitos, debilitando seu sistema imunológico de defesa (HEMING, 2003).

As qualidades intrínsecas de cada patógeno, como procedência do isolado, hospedeiro original ou local de coleta, também são fatores que podem influenciar na virulência, positiva ou negativamente. A variação na mortalidade dos insetos por fungos de mesma espécie, mas de diferentes procedências, podem estar ligados à virulência, que é determinada pela produção de compostos secundários que influenciam a capacidade do patógeno em causar doença (PADULLA, 2007). Em bioensaios de seleção de isolados, a variação de patogenicidade tem sido observada com frequência e pode estar associada a fatores como baixa virulência, especificidade e tolerância do hospedeiro, juntamente com a variabilidade genética de cada isolado.

Neste caso, alguns produtos podem ter apresentado resultados de mortalidade satisfatórios, mas apenas em laboratório, cujas condições de temperatura, fotoperíodo e umidade são propícias ao desenvolvimento dos patógenos (ALVES, 1998). Em muitas situações, os resultados obtidos em laboratório não são confirmados em condições de campo.

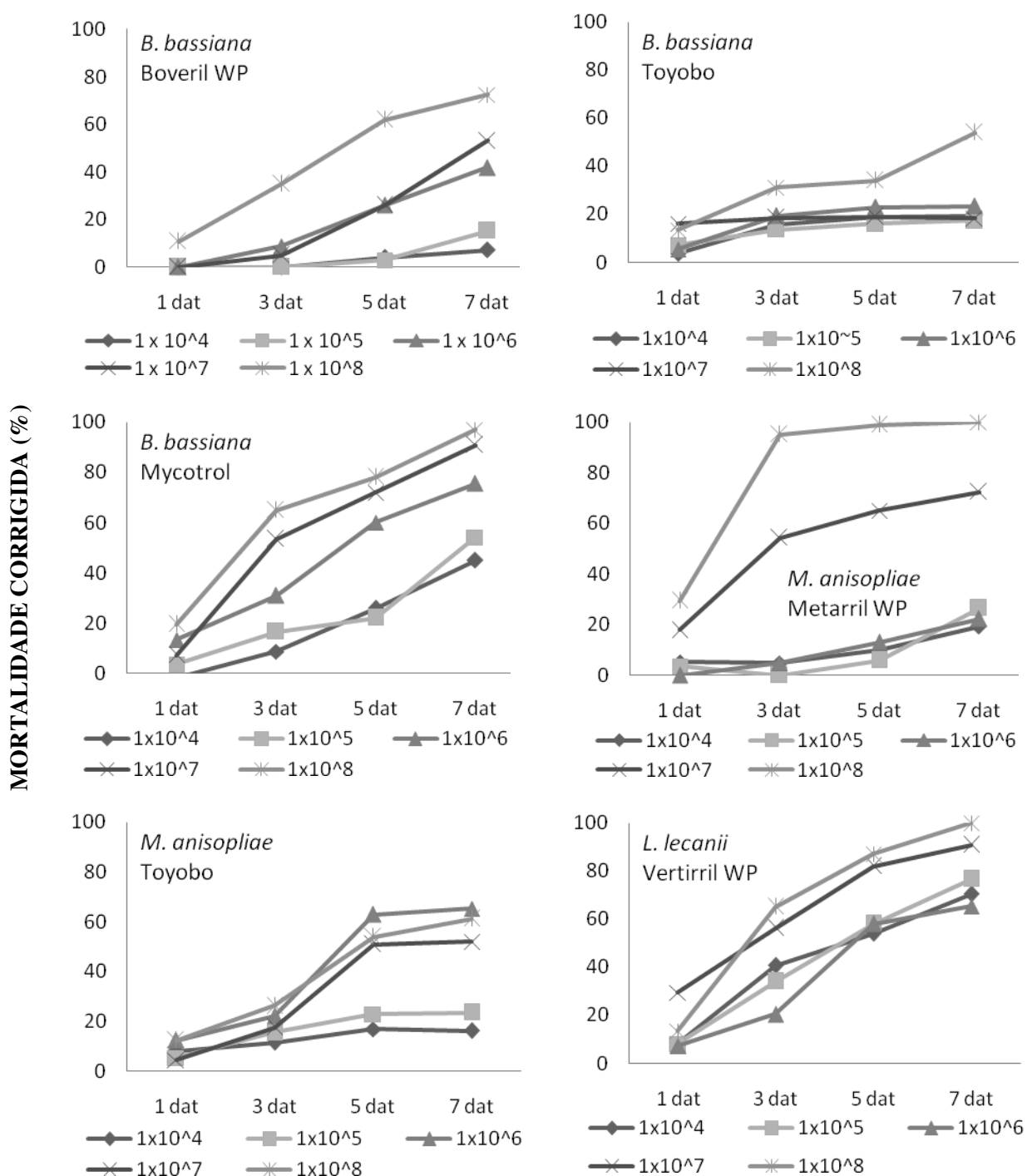


Figura 7. Mortalidade acumulada corrigida de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* pulverizadas com diferentes concentrações de formulações comerciais de fungos entomopatogênicos (temperatura: $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h). (Obs.: dat = dias após o tratamento) (ABBOTT, 1925).

Favaro (2006a), testando o efeito de um isolado de *B. bassiana* e dois isolados de *L. lecanii* sobre ninfas de 5º instar de *G. brimblecombei* em mudas de *E. camaldulensis*, obteve valores de mortalidade total de 81% para *B. bassiana*, 80% e 66% para os dois isolados de *L. lecanii* (isolados CG904 e CG902, respectivamente) no décimo dia de avaliação, com a concentração de $1,5 \times 10^7$ conídios/mL. Esta alta mortalidade apresentada pelo fungo *B. bassiana* pode indicar maior especificidade deste patógeno ao psíldeo-de-concha, pois foi isolado de cadáver de *G. brimblecombei*. Comparativamente aos resultados obtidos neste trabalho, o produto à base de *B. bassiana* que apresentou maior virulência foi o Mycotrol, cujo patógeno foi obtido em mosca-branca *Bemisia tabaci*, ou seja, também um hemíptero como *G. brimblecombei*. Os demais produtos a base de *B. bassiana* (Boveril WP e Toyobo) utilizados foram provenientes de cadáveres de coleópteros, podendo esta ser uma das justificativas pelo menor desempenho em relação ao produto Mycotrol. Tanto os isolados de *L. lecanii* usados por Favaro (2006) quanto o isolado de *L. longisporum* usado neste estudo foram provenientes de hemípteros.

Puterka et al. (1994) testaram dois isolados de *B. bassiana* e um isolado de *L. lecanii* para o controle do psíldeo-da-pêra *Cacopsylla piricola*, na concentração de 1×10^7 conídios/mL aplicados sobre ninfas de terceiro ínstar. Nas avaliações de três, cinco e sete dias após a aplicação dos patógenos, os percentuais de mortalidade foram 40,6%, 85,6% e 92,5% para o isolado de *B. bassiana* 2430, de 57,4%, 93,8% e 96,0% para o isolado de *B. bassiana* 2860. Para o isolado de *L. lecanii* as mortalidades foram de 17%, 81,1% e 98,6% para o 3º, 4º e 5º dia após a aplicação do fungo, mostrando-se mais virulento do que o fungo *L. longisporum* usado neste estudo, que obteve resultados semelhantes, porém na concentração de 10^8 conídios/ml.

Leite et al. (2005) observaram que mortalidade acumulada de ninfas de terceiro ínstar do pulgão gigante-do-pinus *Cinara atlantica*, por 21 isolados de *L. lecanii* variou entre 22,92% e 72,22%, na concentração de 1×10^7 conídios/ml em condições de laboratório, após 15 dias de avaliação. Nesta mesma concentração, os resultados obtidos pelo produto Vertirril WP sobre ninfas entre terceiro e quarto ínstar de *G. brimblecombei* foram de 90,82% de mortalidade corrigida e 92,50% de mortalidade total.

A suscetibilidade de alguns hemípteros-praga de cereais ao fungo *L. lecanii* foi avaliada por Feng et al. (1990), demonstrando que *Diuraphis noxia*,

Metopolophium dirhodum, *Rhopalosiphum maidis*, *Schizaphis graminum*, *Sitobion avenae* e *R. padi* apresentaram índices de mortalidade de 85%, 80%, 86%, 62%, 100% e 70%, respectivamente.

Com relação ao fungo *M. anisopliae*, Carswell et al. (1998) obtiveram 100% de mortalidade para *Musca domestica* e *Bactrocera tryoni*, nove dias após a inoculação. Na concentração de 1×10^7 conídios/mL, de 10 isolados de *M. anisopliae*, 5 apresentaram mortalidade de ninfas de *B. tabaci* em folhas de feijão entre 73% e 97% (HERRERA et al., 1999). Freitas et al. (2001) avaliando a patogenicidade deste mesmo fungo no controle de *B. tabaci*, obteve mortalidade de 72,6% das ninfas tratadas.

Pela análise de Probit (FINNEY, 1964) não foi verificada diferença significativa entre as CL_{50} , pela sobreposição dos intervalos de confiança (Tabela 4). Paralelamente, os produtos que proporcionaram valores de mortalidade mais altos mesmo nas menores concentrações testadas, obtiveram CL_{50} calculada abaixo das concentrações utilizadas. Destaca-se *L. longisporum* (Vertirril WP), cuja CL_{50} foi calculada em 150 conídios/mL e *B. bassiana* (Mycotrol), com $9,67 \times 10^3$ conídios/mL (Tabela 4). Estes resultados foram motivados pela alta virulência destes dois produtos às ninfas de *G. brimblecombei*, que no caso de *L. longisporum* (Vertirril WP), apresentou mortalidade total de 75,83% na menor concentração na avaliação de 7 dias (Figura 8).

Tabela 4. CL_{50} , intervalo de confiança (95%) e valores do teste qui-quadrado para as formulações comerciais de fungos entomopatogênicos utilizados no controle de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h)

Patógeno (produto)	CL_{50} (con./ml)	Log. CL_{50}	I.C. (95%)	χ^2	p-valor
<i>B. bassiana</i> (Boveril WP)	$11,2 \times 10^5$	6,05	(5,76; 6,34)	1,09	0,7802
<i>B. bassiana</i> (Toyobo)	$53,1 \times 10^5$	7,73	(3,86; 11,59)	8,17*	0,0425
<i>B. bassiana</i> (Mycotrol)	$0,10 \times 10^5$	3,99	(3,49; 4,34)	1,10	0,7776
<i>M. anisopliae</i> (Metarril WP)	$3,03 \times 10^5$	5,48	(3,97; 6,99)	19,44*	0,0002
<i>M. anisopliae</i> (Toyobo)	$3,82 \times 10^5$	5,58	(3,84; 7,32)	8,78*	0,0323
<i>L. longisporum</i> (Vertirril WP)	$0,0015 \times 10^5$	2,18	(-8,98; 8,33)	3,89	0,2733

* χ^2 significativo (p<0,05)

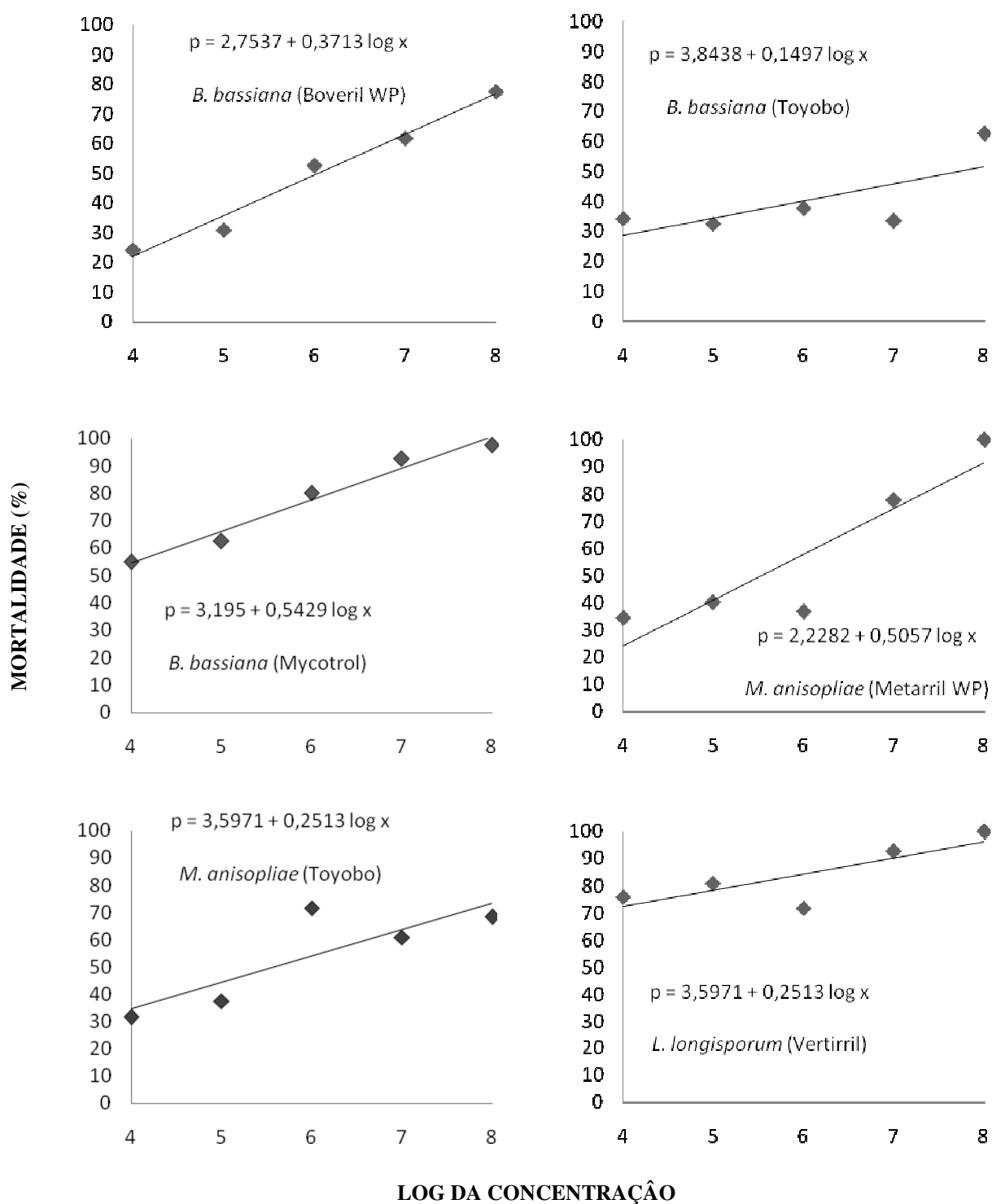


Figura 8. Mortalidade de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* pulverizadas com diferentes concentrações de formulações comerciais de fungos entomopatogênicos (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h).

Nesse contexto, sabe-se que suscetibilidade da grande maioria dos insetos a patógenos é dependente da dosagem de esporos, sendo presumida a existência de um limiar mínimo necessário de propágulos infectivos para provocar doença no hospedeiro. Entretanto, a natureza desta relação não é bem definida para algumas situações (NAVON & ASCHER, 2000). Goettel et al. (1993) observaram correlação negativa entre dosagem e mortalidade para concentrações maiores que 1×10^4 ascósporos de *Ascosphaera aggregata* sobre larvas de *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae).

De fato, todos os produtos testados não apresentaram diferença significativa entre si e nem com a testemunha com relação ao número médio de ninfas mortas, nas duas primeiras avaliações nas concentrações de 1×10^4 , 1×10^5 e 1×10^6 conídios/mL.

Quando comparadas concentrações de um mesmo produto, foi observado que o bioinseticida Vertirril WP (*L. longisporum*) não apresentou diferença entre suas próprias concentrações com relação ao número de ninfas mortas na última avaliação, variando de 22,8 a 30,0 ninfas mortas.

Os produtos que apresentaram as melhores eficiências no controle de ninfas de *G. brimblecombei*, *B. bassiana* (Mycotrol), *M. anisopliae* (Metarril WP) e *L. longisporum* (Vertirril WP), também apresentaram um pico de mortalidade aos 3 dias após a pulverização (Figura 9), principalmente na concentração de 1×10^8 conídios/mL, cujas médias do número de ninfas mortas foram significativamente diferentes quando comparadas a dos demais produtos (Tabela 3).

Esta rápida mortalidade das ninfas pode estar atrelada a alta concentração do patógeno, bem como pela suscetibilidade do hospedeiro (FARGUES & RODRIGUES-RUEDA, 1980). Cassiano et al. (2008), analisando a adesão de conídios e as possíveis correlações entre o tempo e a concentração de esporos de *M. anisopliae* em cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), observou alta correlação entre estes fatores e, conseqüentemente, maior mortalidade em menor tempo.

De fato, o tratamento *B. bassiana* (Mycotrol) apresentou pico de mortalidade aos 3 dias após a pulverização, na concentração de 1×10^8 e 1×10^7 conídios/mL, de 45% e 46,67%, enquanto que na concentração de 1×10^6 a maior mortalidade foi aos 5 dias após a pulverização (25,83%) e na concentração de 1×10^5 conídios/mL o maior valor foi aos 7 dias após a pulverização (27,50%) (Figura 9).

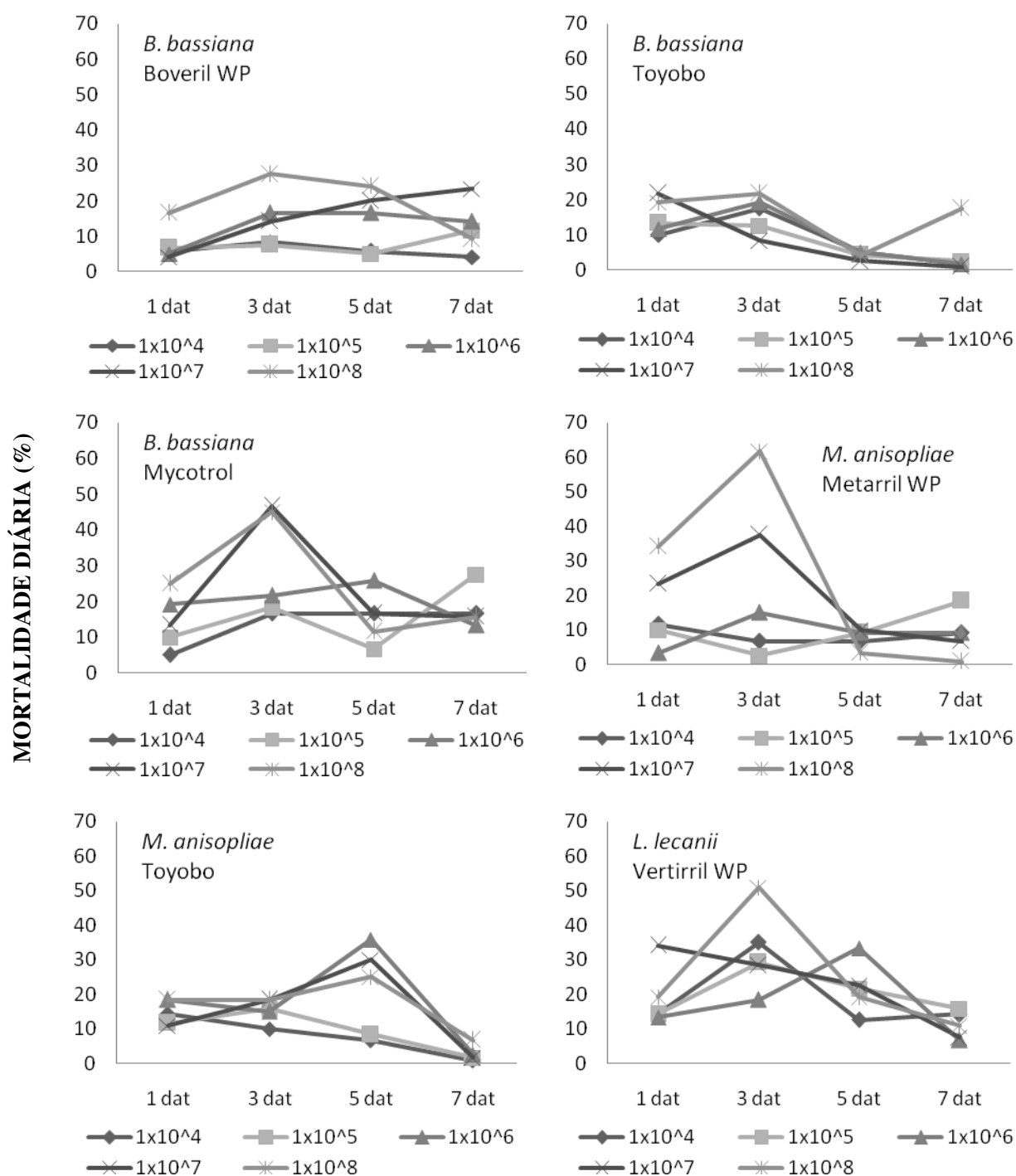


Figura 9. Mortalidade diária de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* pulverizadas com diferentes concentrações de formulações comerciais de fungos entomopatogênicos. (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h) (Obs.: dat = dias após o tratamento).

Pela análise dos valores de TL_{50} (Tabela 5) foi possível observar o comportamento dos patógenos com relação ao tempo necessário para matar 50% da população. De maneira geral, o TL_{50} foi diminuindo com o aumento da concentração, sendo menor para o produto *M. anisopliae* (Metarril) (1,37), na maior concentração. Neste caso, os valores de mortalidade final não significaram maiores mortalidades em menos tempo, pois *L. longisporum* (Vertirril WP) apresentou mortalidade total igual a *M. anisopliae*, porém com tempo TL_{50} de 2,39 dias, sendo ambos os produtos com melhor desempenho. O maior TL_{50} encontrado foi para o bioinseticida *B. bassiana* (Toyobo), de 13,91 dias.

Os tempos letais mais lentos podem ser explicados ou pelo modo de aplicação dos produtos ou por reações específicas dos fungos no processo de penetração, colonização, ação de toxina e mecanismo de defesa dos insetos (BATISTA FILHO et al., 1995).

Tabela 5. TL₅₀, intervalo de confiança e valores do teste qui-quadrado para as formulações comerciais e concentrações de fungos entomopatogênicos aplicados nas ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: 70 ± 10% e fotofase: 12 h).

<i>B. bassiana</i> (Boveril WP)	TL₅₀	IC	Equação	χ²	p-valor
1,0 x 10 ⁴	11,90	(10,78; 13,02)	p = 3,4459 + 0,1306.logx	0,00	0,9987
1,0 x 10 ⁵	10,23	(9,30; 11,16)	p = 3,3860 + 0,1578.logx	1,24	0,5382
1,0 x 10 ⁶	6,45	(5,88; 7,02)	p = 3,3344 + 0,2581.logx	0,31	0,8556
1,0 x 10 ⁷	5,99	(5,53; 6,44)	p = 3,0668 + 0,3229.logx	3,10	0,2123
1,0 x 10 ⁸	3,85	(3,41; 4,30)	p = 3,8953 + 0,2871.logx	0,71	0,7008
<i>B. bassiana</i> (Toyobo)	TL₅₀	IC	Equação	χ²	p-valor
1,0 x 10 ⁴	9,38	(8,35; 10,41)	p = 3,8464 + 0,1230.logx	1,19	0,5526
1,0 x 10 ⁵	10,83	(9,55; 12,11)	p = 3,9277 + 0,0990.logx	0,27	0,8738
1,0 x 10 ⁶	8,60	(7,58; 9,62)	p = 3,9302 + 0,1244.logx	1,28	0,5269
1,0 x 10 ⁷	13,91	(11,61; 16,21)	p = 4,2340 + 0,0551.logx	0,12	0,9401
1,0 x 10 ⁸	5,23	(4,53; 5,94)	p = 4,0568 + 0,1802.logx	1,23	0,5418
<i>B. bassiana</i> (Mycotrol)	TL₅₀	IC	Equação	χ²	p-valor
1,0 x 10 ⁴	6,30	(5,76; 6,84)	p = 3,2994 + 0,2700.logx	0,64	0,7262
1,0 x 10 ⁵	5,93	(5,42; 6,45)	p = 3,5438 + 0,2454.logx	4,16	0,1249
1,0 x 10 ⁶	3,84	(3,40; 4,27)	p = 3,8848 + 0,2907.logx	2,49	0,2879
1,0 x 10 ⁷	3,08	(2,77; 3,40)	p = 3,7497 + 0,4054.logx	0,34	0,8435
1,0 x 10 ⁸	2,34	(1,98; 2,70)	p = 4,0481 + 0,4069.logx	0,67	0,7141
<i>M. anisopliae</i> (Metarril WP)	TL₅₀	IC	Equação	χ²	p-valor
1,0 x 10 ⁴	10,17	(9,18; 11,16)	p = 3,6917 + 0,1287.logx	0,90	0,6360
1,0 x 10 ⁵	8,82	(8,12; 9,53)	p = 3,4124 + 0,1800.logx	6,90*	0,0318
1,0 x 10 ⁶	8,28	(7,56; 9,01)	p = 3,3316 + 0,2014.logx	0,24	0,8874
1,0 x 10 ⁷	3,03	(2,49; 3,57)	p = 4,2891 + 0,2345.logx	0,55	0,7594
1,0 x 10 ⁸	1,37	(0,95; 1,80)	p = 4,1729 + 0,6024.logx	0,01	0,9954
<i>M. anisopliae</i> (Toyobo)	TL₅₀	IC	Equação	x²	p-valor
1,0 x 10 ⁴	11,14	(9,82; 12,47)	p = 3,9355 + 0,0955.logx	0,18	0,9132
1,0 x 10 ⁵	8,55	(7,59; 9,50)	p = 3,8675 + 0,1325.logx	0,46	0,7930
1,0 x 10 ⁶	4,23	(3,76; 4,71)	p = 3,8668 + 0,2677.logx	5,56	0,0621
1,0 x 10 ⁷	5,18	(4,68; 5,68)	p = 3,6767 + 0,2554.logx	2,71	0,2582
1,0 x 10 ⁸	4,47	(3,94; 5,01)	p = 3,9406 + 0,2368.logx	1,75	0,4160
<i>L. longisporum</i> (Vertirril WP)	TL₅₀	IC	Equação	x²	p-valor
1,0 x 10 ⁴	3,99	(3,52; 4,46)	p = 3,9166 + 0,2716.logx	0,33	0,8497
1,0 x 10 ⁵	3,94	(3,53; 4,34)	p = 3,7596 + 0,3152.logx	0,83	0,6595
1,0 x 10 ⁶	4,51	(4,07; 4,94)	p = 3,6796 + 0,2930.logx	3,89	0,1433
1,0 x 10 ⁷	2,11	(1,72; 2,51)	p = 4,3190 + 0,3221.logx	1,30	0,5216
1,0 x 10 ⁸	2,39	(2,14; 2,65)	p = 3,6291 + 0,5732.logx	0,68	0,7122

* x² significativo (p<0,05)

De acordo com os resultados de Favaro (2006a), o TL_{50} dos isolados de *B. bassiana* BF01 e de *L. lecanii* CG904 e CG902, foram de 4,86, 6,52 e 7,03 dias, respectivamente, para ninfas de *G. brimblecombei*, utilizando concentração de $1,5 \times 10^7$ conídios/mL.

Gassen (2006) obteve, para as concentrações de 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL, valores de TL_{50} de 2,67 e 2,94 para *B. bassiana*, 1,74 e 1,88 para *M. anisopliae* e 2,94 e 2,84 para *L. lecanii*, respectivamente para *Triozoida* sp.

Kim et al. (2003), ao avaliar a patogenicidade dos fungos *L. lecanii*, *B. bassiana* e *Paecilomyces* spp., demonstraram que *L. lecanii* foi o mais patogênico contra *Aphis gossypii*, tendo apresentado 100% de mortalidade e TL_{50} de 2,7 dias. Askary et al. (1998) avaliaram a capacidade de infecção de dois isolados de *L. lecanii* e o produto comercial Vertalec, para o pulgão *M. euphorbiae*. O TL_{50} foi de 5 dias para o produto e para o isolado 198499, e de 9 dias para o isolado 216596, indicando maior eficiência do produto Vertalec e do isolado 198499, com mortalidade de 76% e 94%, respectivamente. Hall & Burges (1979) obtiveram sucesso no controle de *M. persicae*, em casa de vegetação com o fungo *L. lecanii*, cujo TL_{50} foi de 3,3 dias.

Loureiro e Monteiro (2004) observaram decréscimo dos tempos letais para operárias de *Atta sexdens sexdens* conforme o aumento da concentração de conídios nas suspensões de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. farinosus*. Os tempos letais para os três fungos em questão foram 2,16, 2,50 e 1,48 dias, porém, em concentração de 10^9 conídios/mL.

Todos os bioinseticidas utilizados resultaram em cadáveres com extrusão das estruturas dos fungos, comprovando a capacidade do patógeno em completar seu ciclo no interior do hospedeiro (TAKADA, 2002). Foi observado que o desenvolvimento do fungo foi crescente em resposta ao aumento das concentrações para todos os tratamentos (Figura 10). Este fenômeno foi reportado por Wenzel (2005) através da aplicação de diferentes concentrações de *L. lecanii* em *Tetranychus urticae* e por Neves & Hirose (2005) em *Hypothenemus hampei*.

Além das características intrínsecas de cada fungo, esta relação positiva entre a conidiogênese e a concentração pode ser explicada considerando-se que quanto maior a quantidade, maior número de conídios tem possibilidade de germinar, penetrar e colonizar o hospedeiro, dificultando a proliferação de outros microrganismos competidores que poderiam interferir no processo de esporulação (NEVES & HIROSE, 2005).

Nesse sentido, as menores concentrações dos produtos utilizados neste trabalho resultaram insetos com a presença de outros agentes colonizadores, sendo observado, pela aparência de alguns dos insetos mortos que não esporularam, a provável ocorrência de septicemia, onde se presume que seja o desenvolvimento de bactérias. Alguns insetos mortos apresentaram infecção por alguns fungos oportunistas como *Aspergillus* spp., *Paecylomices* e *Penicillium* spp.

Dos produtos utilizados neste trabalho que apresentaram melhor desempenho, o bioinseticida Mycotrol foi o que apresentou a maior porcentagem de insetos colonizados, nas três maiores concentrações (74,17%, 25,0% e 88,3%), seguido pelo tratamento *L. longisporum* (Vertirril WP) (83,3%) na maior concentração. Estes resultados são bastante interessantes, pois indicam a capacidade do patógeno em se disseminar e infectar outros organismos, podendo desencadear processos epizoóticos através da transmissão horizontal.

Salienta-se, também, que no caso de produtos que apresentaram menores taxas de mortalidade total, como no caso de *B. bassiana* (Boveril WP), apresentou, por conseguinte, taxa satisfatória de insetos esporulados na maior concentração (77,5%). Em contrapartida, o tratamento *M. anisopliae* (Metarril WP), que apresentou alta performance na mortalidade de ninfas de *G. brimblecombei*, não obteve o mesmo desempenho quanto ao desenvolvimento do patógeno no hospedeiro.

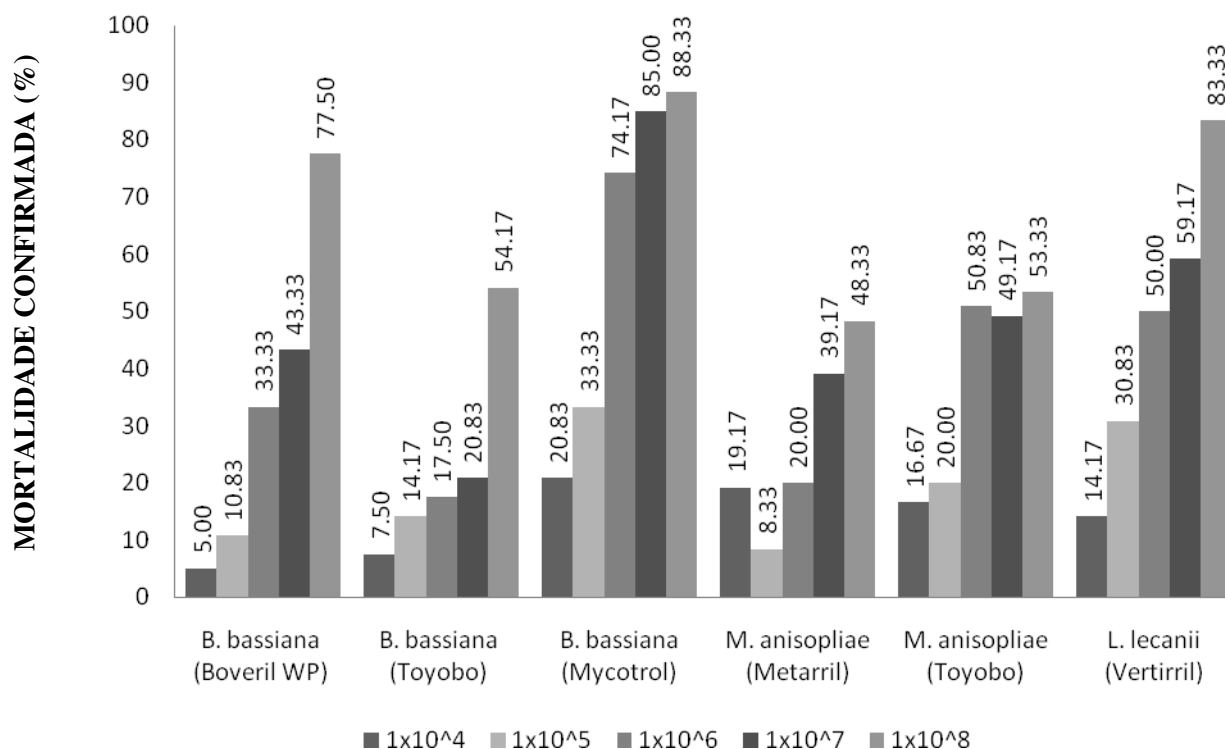


Figura 10. Mortalidade confirmada acumulada de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* pulverizadas com diferentes concentrações de formulações comerciais de fungos entomopatogênicos. (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h).

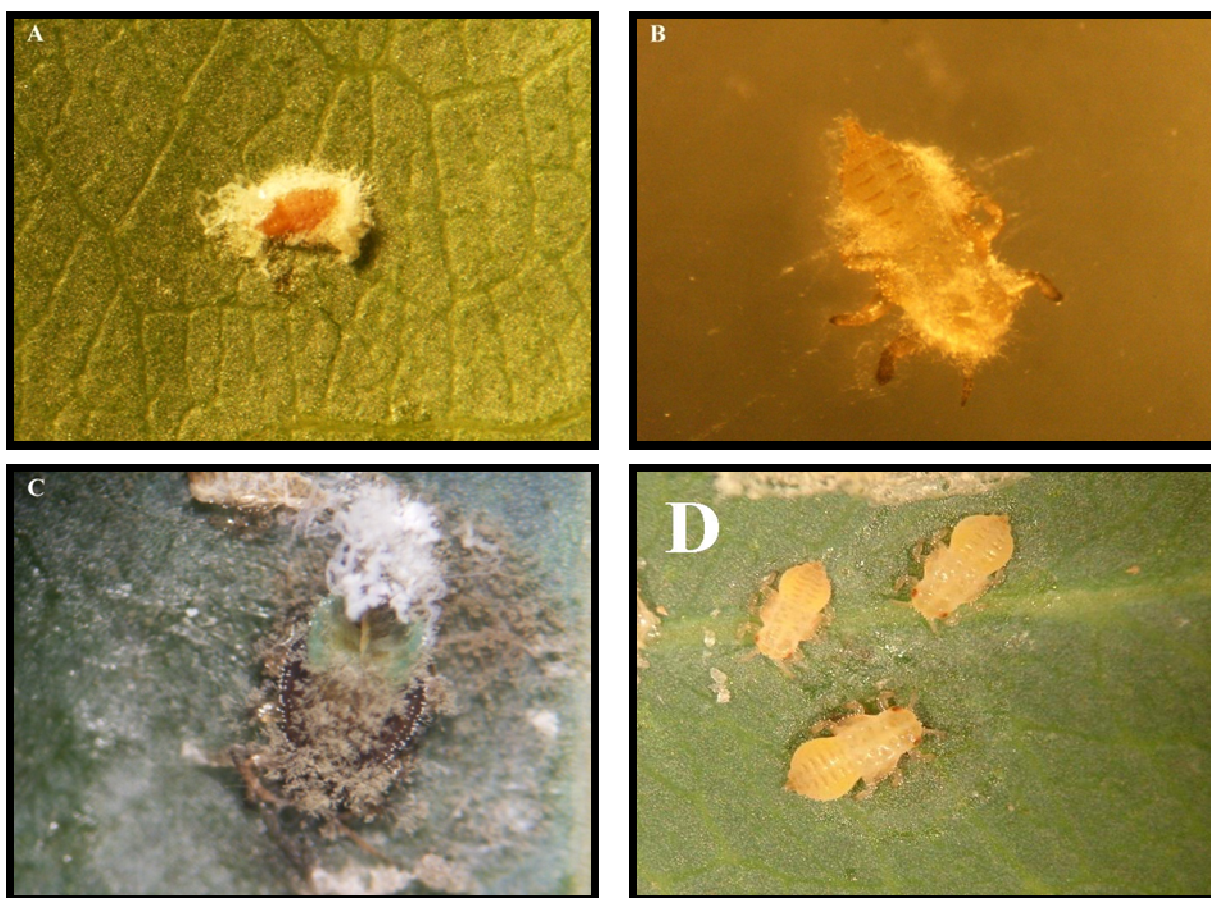


Figura 11. Ninfas de *Glycaspis brimblecombei* infectadas por *B. bassiana* (A), *L. longisporum* (B) e *M. anisopliae* (C). Ninfas saudáveis (D).

4.1.1 Deposição de conídios

A análise de deposição de conídios, geralmente expressa em conídios/mm², pode ser utilizada como método auxiliar na padronização e determinação de isolados ou formulações comerciais de fungos entomopatogênicos (SHI et al., 2008).

O número de conídios depositados nas lâminas de vidro em decorrência da pulverização das formulações comerciais de fungos entomopatogênicos aumentou com o incremento da concentração das suspensões (Figura 12).

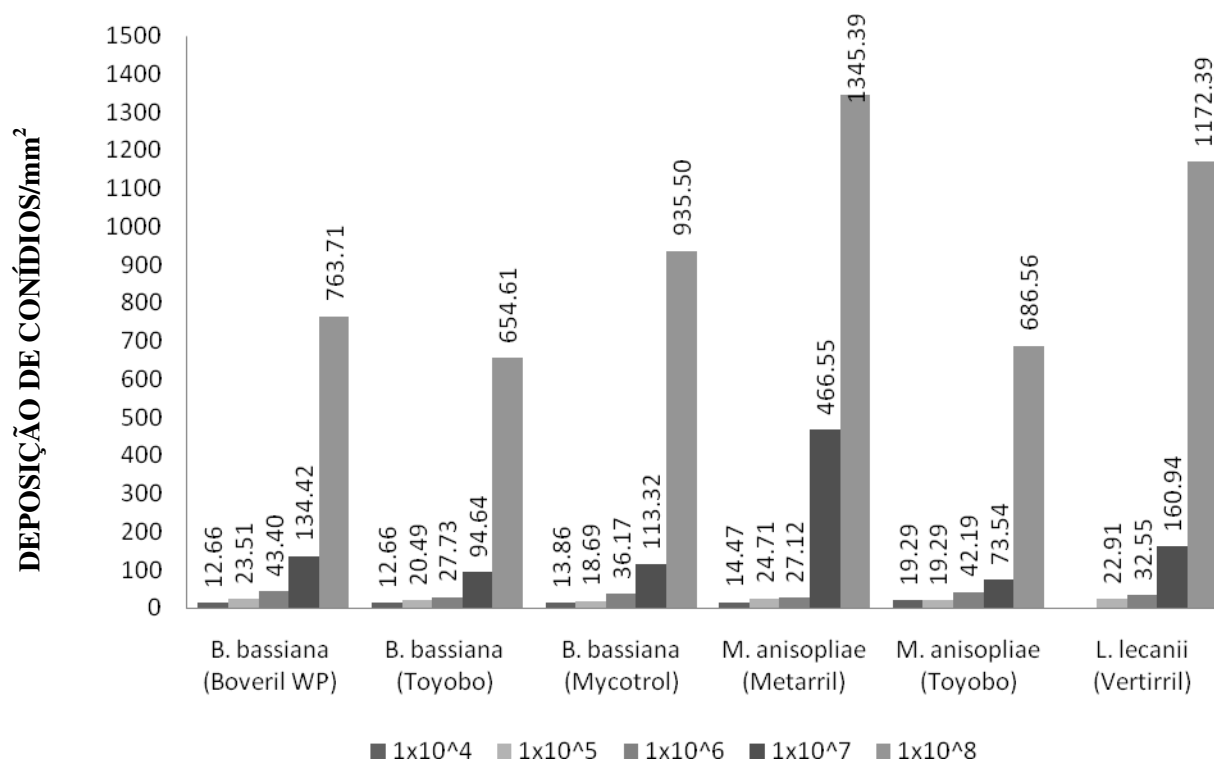


Figura 12. Valores médios da deposição de conídios/mm² dos fungos entomopatogênicos em função da aplicação de diferentes concentrações dos bioinseticidas.

A variação entre os valores das menores para as maiores concentrações foi de no mínimo 12,66 conídios/mm² para os tratamentos *B. bassiana* (Boveril WP e Toyobo) e, no máximo, de 1345 conídios/mm² para o tratamento *M. anisopliae* (Metarril WP). Os dados obtidos corroboram com os obtidos por Shi et al. (2008) que, utilizando concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 e 1×10^8 conídios/ml de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, chegaram em deposições mínimas de 29 e máxima de 1946 conídios/mm² para *B. bassiana* e mínima de 21 e máxima de 1626 conídios/mm² para *M. anisopliae*.

A relação entre o número de conídios depositados e mortalidade foi mais forte para os produtos que apresentaram incremento da mortalidade em resposta a concentração, como Boveril WP e Metarril WP. Os bioinseticidas que apresentaram mortalidade pouco dependente da concentração também mostraram menor dependência com relação ao número de conídios depositados (Figura 13).

Tais resultados reforçam a eficiência efetiva dos bioinseticidas, principalmente quanto à formulação, pois as diferenças na deposição dos conídios, neste caso, podem ser atribuídas às diferentes preparações utilizadas.

Considerando-se apenas a concentração de 1×10^8 conídios/mL, os produtos preparados em arroz inteiro apresentaram menor deposição de conídios em relação às outras preparações. Contudo, durante o preparo das suspensões, foi realizada agitação constante, até a soltura de toda a massa de esporos dos grãos de arroz. A agregação de conídios em massas foi observada com frequência durante a contagem de esporos nas lâminas, mesmo com a padronização da agitação das suspensões, que foram realizadas por 30 segundos em tubos de ensaio antes da pulverização.

Nesse sentido, pelo aspecto visual das formulações, os produtos à base de *M. anisopliae* e *L. longisporum* apresentaram-se de forma aparentemente mais solta, o que pode ter colaborado para a homogeneização das suspensões fúngicas.

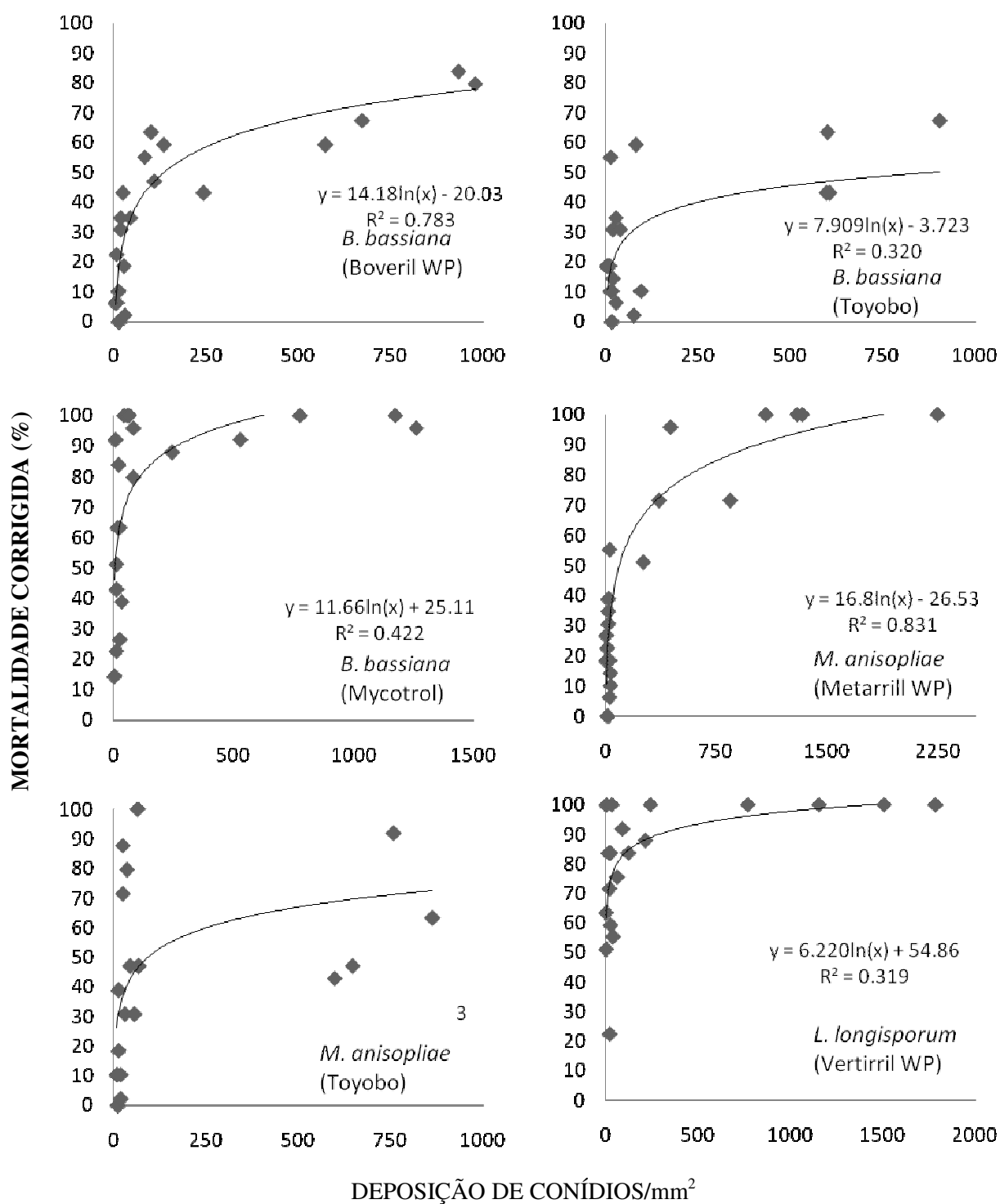


Figura 13. Relação entre a deposição de conídios/ mm^2 dos diferentes fungos entomopatogênicos e a mortalidade corrigida de ninfas de *Glycaspis brimblecombei*.

4.2 Eficiência dos inseticidas biológicos sobre as ninfas de *Glycaspis brimblecombei* em condições de semicampo

Comparativamente aos ensaios realizados no laboratório, a mortalidade dos insetos mostrou-se inferior no teste de semicampo. Pela análise do declínio da população das ninfas de *G. brimblecombei* no tratamento testemunha e em comparação deste com os demais tratamentos, observou-se baixa ação de alguns bioinseticidas, como *B. bassiana* (Boveril WP), *M. anisopliae* (Toyobo) nas formas de aplicação pulverizada e polvilhada. A pulverização do produto Mycotrol também apresentou valores baixos de mortalidade, com 36,5% e 34,3% para as dosagens de 0,5 e 1,0 L do produto comercial/ha (Tabela 6). Nos ensaios de laboratório este produto apresentou, nas concentrações de 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL, mortalidade de ninfas superior a 80%.

Entretanto, a situação inversa também foi observada, visto que produtos com resultados inferiores no laboratório apresentaram taxas de controle satisfatórias na condição de semicampo. Nesse sentido, em condições praticamente opostas às do laboratório, o tratamento *B. bassiana* (Toyobo) teve declínio de aproximadamente 70% da população para ambas as dosagens na aplicação polvilhada. Os tratamentos *M. anisopliae* (Toyobo) e *L. longisporum* (Vertirril WP) responderam por 66,2% e 76,5% do declínio da população da praga, também na forma polvilhada.

O bom desempenho de alguns produtos aplicados na forma polvilhada pode ser atribuído às condições da própria forma de aplicação, que diferentemente da aplicação pulverizada, o conídio não entra em contato com água, evitando o início do processo germinativo. Dessa maneira, os conídios só irão germinar em condições ideais de umidade e temperatura, e se houver condições ideais específicas entre o patógeno e hospedeiro, podendo manter, de certa forma, a capacidade infectiva do conídio por mais tempo.

Tabela 6. Valores médios (%) da densidade de declínio (D) da população de *Glycaspis brimblecombei* em função da aplicação dos bioinseticidas.

Tratamentos	Polvilhamento		Pulverização	
	Dosagens (kg/ha)			
	Maior	Menor	Maior	Menor
<i>B. bassiana</i> (Boveril WP)	36,3 ab ¹ A ² α ³ (8,0)	33,4 ab A α (4,0)	30,8 ab A α (8,0)	21,6 a A α (4,0)
<i>B. bassiana</i> (Toyobo)	68,4 c B α (0,4)	72,9 c B α (0,2)	41,0 ab A α (0,4)	34,0 ab A α (0,2)
<i>B. bassiana</i> (Mycotrol)	-	-	34,3 ab α (1,0 L/ha)	36,5 ab α (0,5 L/ha)
<i>M. anisopliae</i> (Metarril WP)	53,3 bc A α (8,0)	46,5 bc A α (4,0)	53,4 b A α (8,0)	70,9 c B β (4,0)
<i>M. anisopliae</i> (Toyobo)	66,2 bc B α (1,0)	47,1 bc A α (0,5)	23,0 ab A α (1,0)	62,8 bc A β (0,5)
<i>L. longisporum</i> (Vertirril WP)	76,5 c B β (8,0)	45,1 abc A α (4,0)	47,5 b A α (8,0)	38,3 abc A α (4,0)
Teste	14,33 a		14,33 a	
CV (%): 58,36				
DMS produtos x aplicação:	31,64		32,74	
DMS polvilhado x pulverizado: 21,69				
DMS dosagens: 21,69				

¹ Letras minúsculas comparam os produtos em cada coluna

² Letras maiúsculas comparam o polvilhamento e a pulverização

³ Letras gregas comparam as doses dentro de cada forma de aplicação

Ambos bioinseticidas à base de *M. anisopliae* mostraram-se eficientes no controle das ninfas de *G. brimblecombei*, nas duas formas de aplicação para *M. anisopliae* (Toyobo) e na forma pulverizada para Metarril WP. O tratamento *M. anisopliae* (Toyobo) apresentou, quando pulverizado, eficiência superior na menor dose (61,72%), com 62,8% de declínio da população.

O produto Metarril, quando testado em condições de campo para a cigarrinha das pastagens *M. fimbriolata* atingiu 65% de mortalidade corrigida dos insetos

(MACEDO et al., 2003). Para o controle de *M. posticata*, o produto Metarril WP, na dose de 4 kg/ha, apresentou mortalidade de 80% (LOPES et al., 2002).

Segundo Alves (1998) a espuma formada por estas espécies de cigarrinhas, a partir da excreção, forma um microclima favorável ao desenvolvimento de fungos entomopatogênicos. Além das próprias características do honeydew, ricos em açúcares e compostos nitrogenados, que são algumas das exigências nutricionais preferidas por alguns fungos entomopatogênicos, incluindo os hifomicetos, que podem inclusive ter a capacidade de germinação de esporos aumentada quando em contato com estas substâncias. Analogamente, pelas características da concha produzida pelas ninfas de *G. brimblecombei*, que são ricas em açúcares e carboidratos (SANCHES, 2003; WHITE, 1972) e pelos resultados obtidos por Dal Pogetto et al. (2008a), esperava-se encontrar estas conchas colonizadas pelos fungos.

Ainda com relação ao ensaio de Dal Pogetto et al. (2008a), este foi conduzido em mudas de eucalipto acondicionadas em laboratório, em condições muito mais próximas do ideal para o desenvolvimento dos fungos do que nas condições de semicampo deste trabalho, cuja temperatura média oscilou entre 26,0 °C à 31,0 °C e a umidade relativa, bem mais crítica, entre 36% à 58,4% (Figura 14).

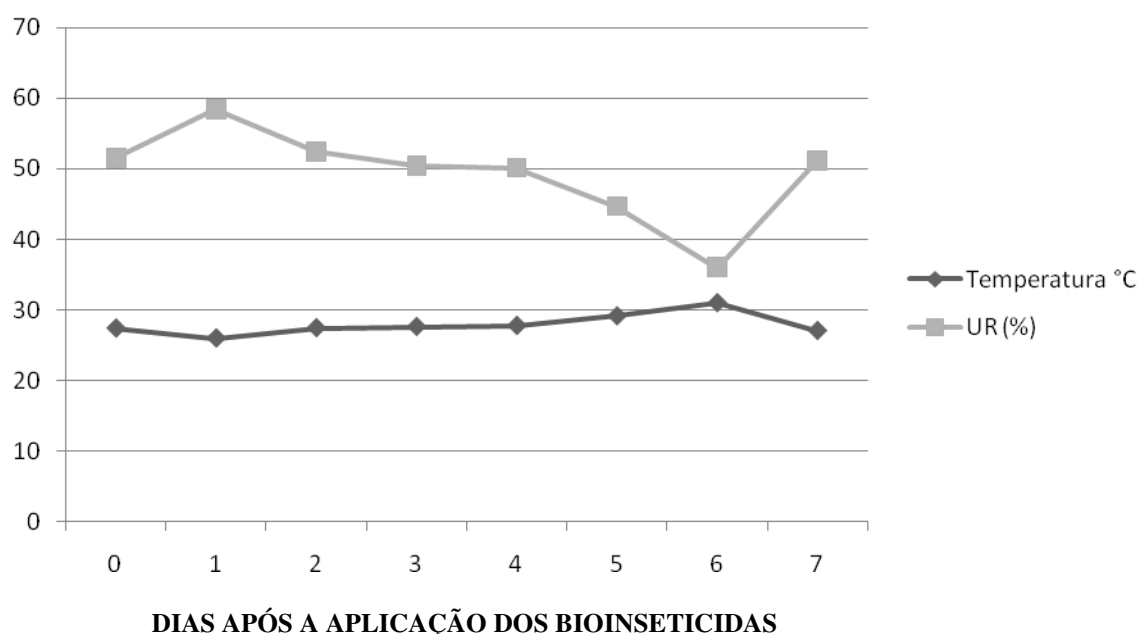


Figura 14. Umidade relativa (%) e temperatura (°C) medidas na casa de vegetação durante o período entre a aplicação dos bioinseticidas e a avaliação de mortalidade nas ninfas de *Glycaspis brimblecombei*.

A eficiência de grande parte dos bioinseticidas não ultrapassou 60% nas condições de semicampo (Figura 15). Entretanto, são inúmeros os fatores bióticos e abióticos que podem comprometer a eficácia destas formulações, principalmente em condições de campo e semi-campo (UGINE et al., 2007).

Condições ambientais desfavoráveis, incluindo baixa umidade, altas temperaturas, chuvas e radiação solar são frequentemente citados como os principais entraves ao sucesso do controle biológico com agentes microbianos (INGLIS et al., 2002; HAJEK, 1997; GLARE & MILNER, 1991; GOETTEL et al., 2000).

Yeo et al. (2003) observou que o produto Mycotrol (*B. bassiana*) e o isolado HRI 172 (*L. lecanii*) apresentaram maior taxa de germinação e maior eficiência no controle de *Aphis fabae* e *Mizus persicae* em temperaturas de 23 °C.

Estudos recentes indicam que até mesmo a temperatura do corpo do inseto pode afetar a eficácia destes agentes de controle, exigindo critérios mais precisos para a

seleção de isolados, visando aqueles com maior tolerância a altas temperaturas (INGLIS et al., 1996; THOMAS & JENKINS, 1997).

Para a adoção de programas de controle microbiano de pragas, a tolerância dos patógenos às condições ambientais adversas é uma característica desejável, devendo comprometer o mínimo possível a eficiência. Especificamente para o psílideo-de-concha, que ocorre em plantios extensivos em regiões com grande variação de temperatura e umidade, é importante se ter entomopatógenos adaptados a condições mais secas, como ocorre no centro-oeste do estado de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul.

Os fatores bióticos também exercem influência direta sobre a eficácia dos agentes de controle, como as interações tróficas entre a planta hospedeira, a praga e fungos entomopatogênicos. Alguns entomologistas e estudiosos de patologia de insetos têm reportado o seqüestro, por parte de alguns insetos, de compostos fitoquímicos com características antimicóticas, conferindo-lhes resistência à infecção por fungos (GOULD & MASSEY, 1984; RAMOSKA & TODD, 1985; POPRAWSKI & JONES, 2000).

Insetos mantidos em dietas artificiais apresentam maior suscetibilidade á infecções por fungos do que insetos mantidos em dieta natural (BOUCIAS et al., 1984; GOETTEL et al., 1993), assim como insetos criados em laboratório também são mais suscetíveis do que insetos coletados no campo (BELL & HAMALLE, 1971).

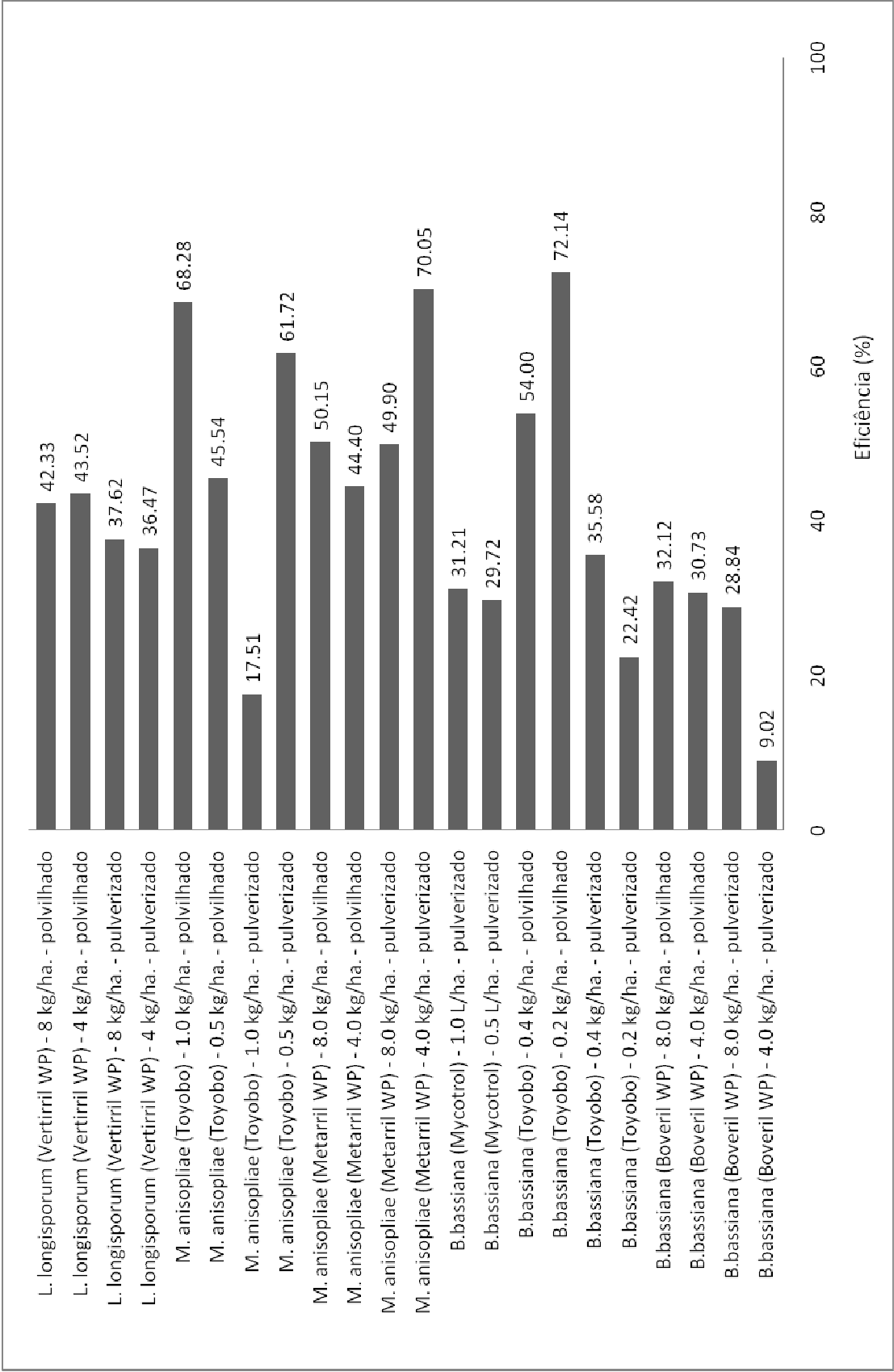


Figura 15. Eficiência da pulverização e do polvilhamento dos bioinseticidas aplicados em diferentes dosagens no controle de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* em condições de semicampo.

Muitos fungos entomopatogênicos entram na hemocele do inseto pela penetração na cutícula do hospedeiro através da combinação de força mecânica e enzimas hidrolíticas (GOETTEL et al., 1989; ST. LEGER et al., 1989). No entanto, o tempo letal e a eficiência são diretamente influenciados pelo número de propágulos infectivos depositados na cutícula do inseto (NAVON & ASCHER, 2000).

A deposição dos conídios variou amplamente entre as formas de aplicação pulverizada e polvilhada, sendo muito superior nos tratamentos pulverizados cujas formulações dos produtos foram em pó (Boveril WP, Metarril WP e Vertirril WP). Entretanto, estes mesmos produtos obtiveram deposição aproximadamente dez vezes menor quando aplicados de forma polvilhada.

Apesar da deposição de conídios inferior, os tratamentos *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Toyobo) apresentaram eficiência de 72,14% e 68,28% (Figura 15) quando aplicados na forma polvilhada, sugerindo que mesmo com baixa deposição, o número de conídios depositados foi suficiente para causar infecção (Figura 16).

Em aplicações pulverizadas do produto BotaniGard 22 WP (*B. bassiana*) para controle do trips *Frankliniella occidentalis* em folhas de feijão *Phaseolus vulgaris* e *Impatiens wallerana*, Ugine et al. (2007) obteve deposição de conídios que variaram de 4 a 3184 conídios/mm², utilizando dosagens entre 0,002 a 6,63 mg de pó do produto comercial/ml. Neste trabalho os autores quantificaram que o número médio de conídios encontrados por inseto variou de 1 a 82,9 e que a CL₅₀ (dose de conídios/inseto) variou de 34,5 para os insetos mantidos em folhas de *Phaseolus vulgaris* e 26,8 para *Impatiens wallerana*.

Pu et al. (2005) aplicaram concentrações de $1,5 \times 10^{13}$ e 3×10^{13} conídios/ha de *B. bassiana* com três tipos de pulverizadores para controle da cigarrinha *Empoasca vittii* em plantas de chá, em duas épocas do ano. A deposição de conídios variou de 594 a 1710 conídios/mm². Já a eficiência não diferiu significativamente entre as doses e formas de aplicação testadas, nem entre as épocas de aplicação na avaliação de 5 dias. Os valores de eficiência variaram de 62,9% a 94,4%, sendo que o maior valor foi para a menor dosagem.

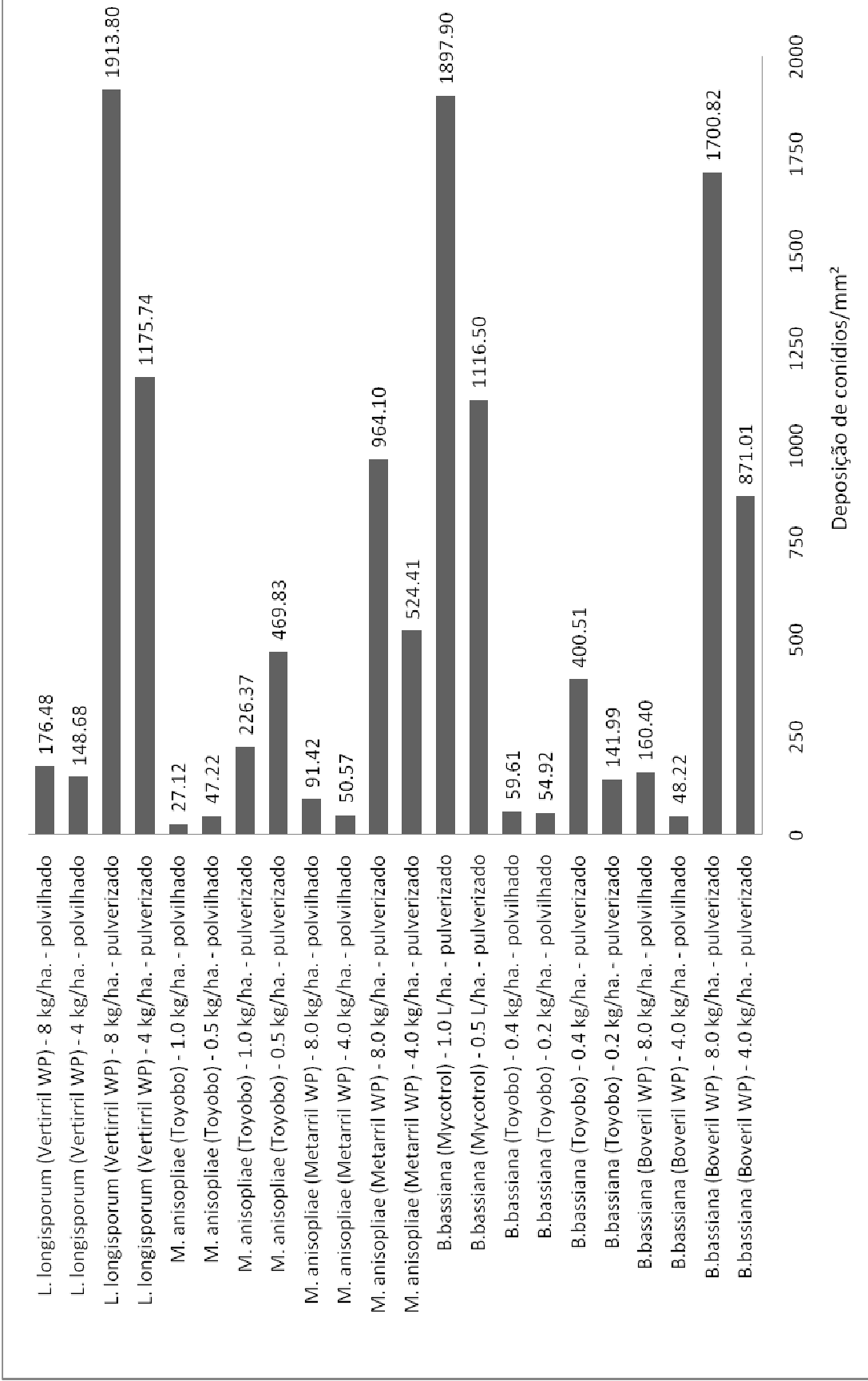


Figura 16. Deposição de conídios/mm² em função da pulverização e do polvilhamento dos bioinseticidas aplicados em diferentes dosagens no controle de ninfas de *Glycaspis brimblecombei* em condições de semicampo.

4.3 Desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos sobre ninfas de *Glycaspis brimblecombei*

A primeira etapa do ciclo infectivo de boa parte dos fungos entomopatogênicos, neste caso, *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. longisporum* consiste na adesão dos esporos ao tegumento do inseto visando à preparação do local para a fase de penetração (ALVES, 1998).

Os conídios destas espécies de fungo são providos de uma mucilagem que os envolvem (SAMSONS et al., 1988) e que podem auxiliar no processo de adesão. Segundo Boucias et al. (1988) o processo de adesão dos fungos pode estar relacionado à camada de microbastonetes, denominada *rodlets*, de natureza lipoproteica que envolvem os conídios. A atuação de forças eletrostáticas também ocorre neste processo, e estas forças podem variar com a espécie de fungo (ALVES, 1998).

O sitio de adesão na cutícula do inseto também pode influenciar o processo de penetração pelos propágulos infectivos dos fungos (NAVON & ASCHER, 2000), como as membranas intersegmentais e as áreas abaixo dos élitros em Coleoptera. As cavidades bucais e anais também podem ser locais preferenciais para o início da doença (WRAIGHT et al., 1990; BUTT et al., 1995; SCHABEL, 1976).

Boucias et al. (1988) reportaram que os conídios tendem a penetrar locais da cutícula dos insetos onde existe a predominância de setas do próprio tegumento, que por ser uma região de maior hidrofobicidade, pode facilitar a adesão dos conídios que também são hidrofóbicos.

Na análise dos corpos das ninfas de *G. brimblecombei* em microscópio óptico, foi possível a observação dos conídios dos três tipos de fungos logo após a aplicação das suspensões conidiais (Figuras 17, 18, 19 e 20).

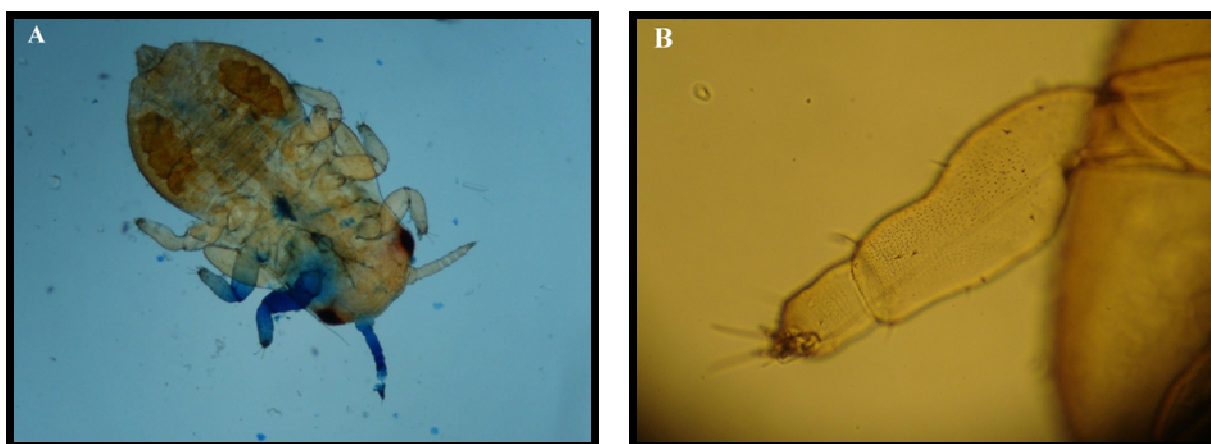


Figura 17. Aspecto geral da ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (A) e detalhe da perna, observados em microscópio óptico (100x e 400x, respectivamente).

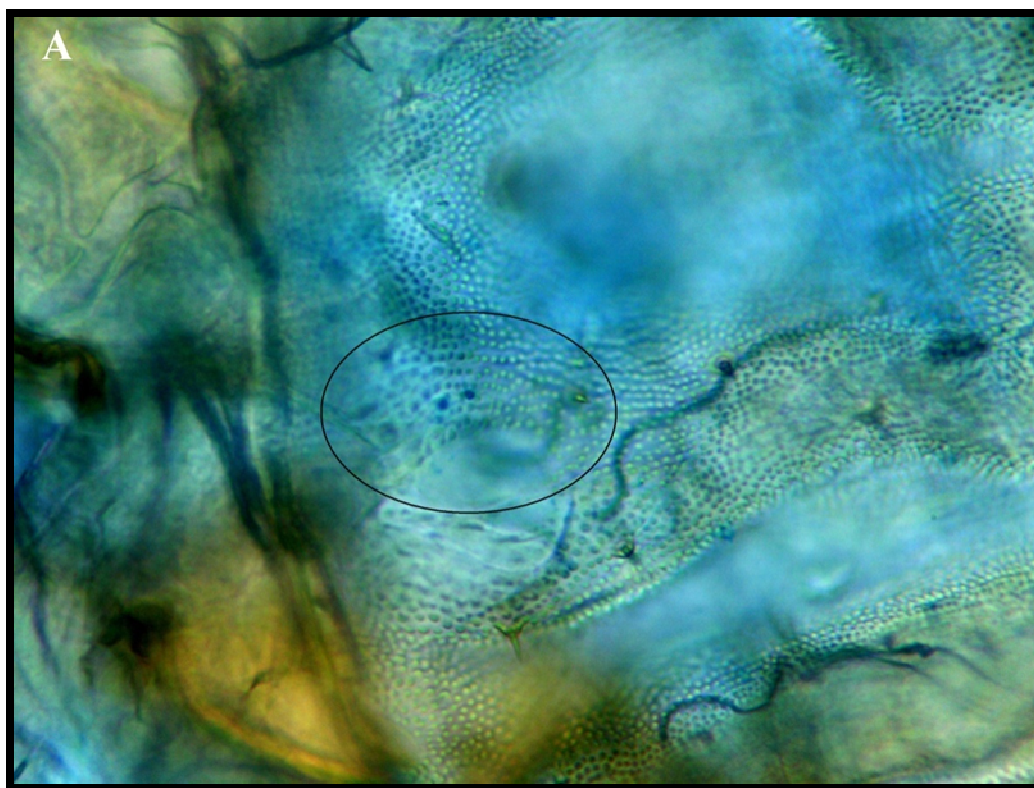


Figura 18. Conídios de *B. bassiana* sobre o tegumento da ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (0 hora).

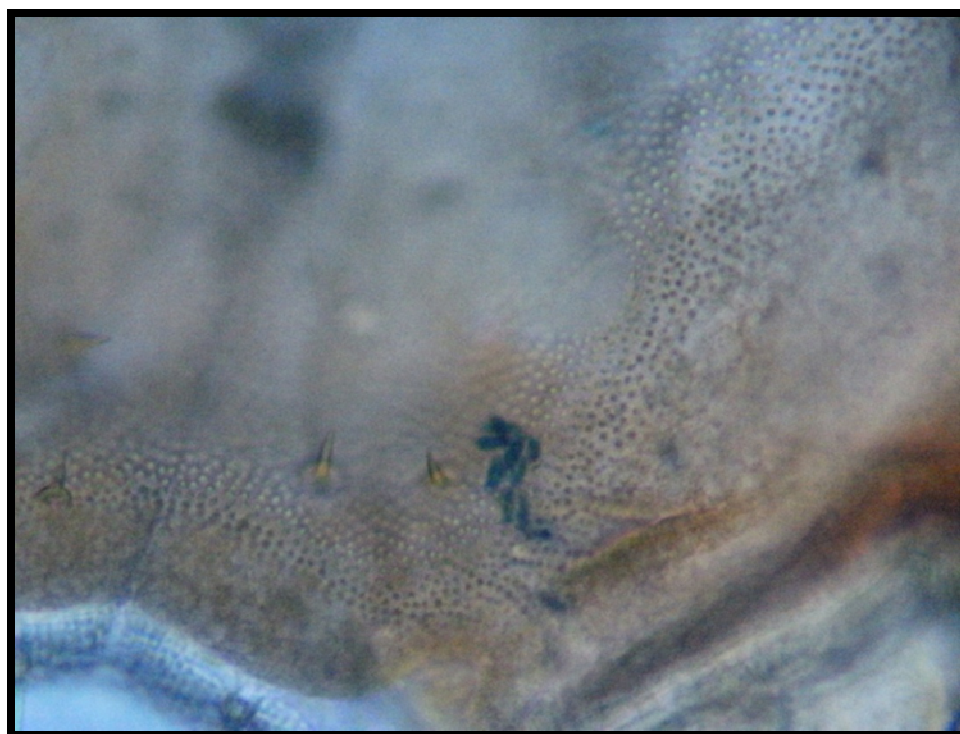


Figura 19. Conídios de *M. anisopliae* sobre o tegumento da ninfa de *Glycaspis brimblecombei*. (0 hora).

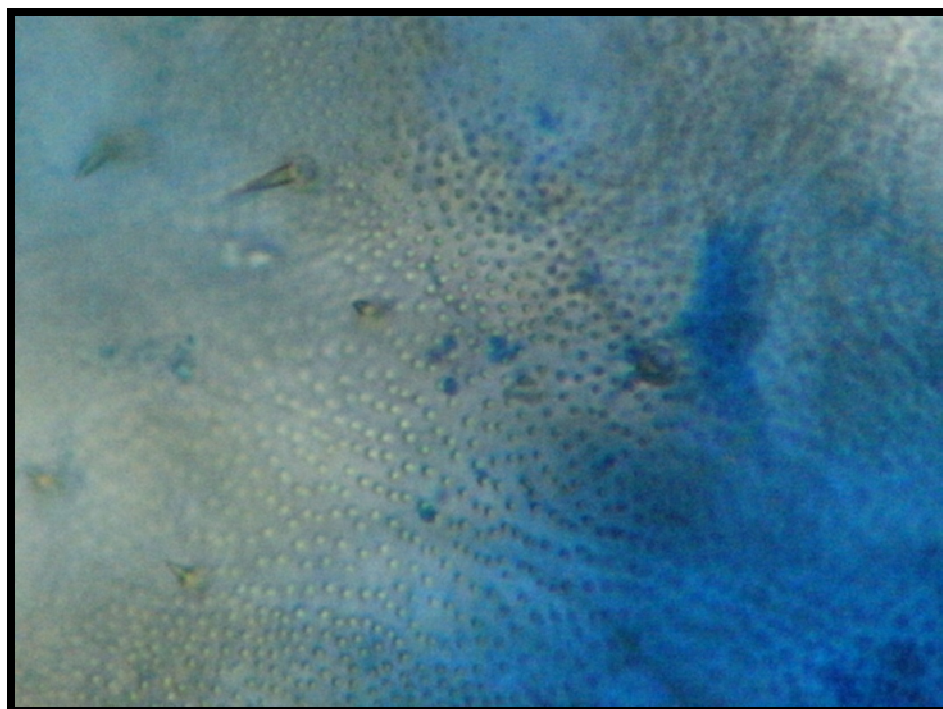


Figura 20. Conídios de *L. longisporum* sobre o tegumento da ninfa de *Glycaspis brimblecombei*. (0 hora).

Alguns trabalhos indicam que a adesão dos esporos é variável em função da espécie de fungo e hospedeiro. Boucias & Pendland (1991) relataram que esporos de *M. anisopliae*, *Nomuraea rileyi* e *B. bassiana* ficaram firmemente aderidos á cutícula de formigas dez minutos após a contaminação pelos fungos. Vey et al. (1982) demonstrou forte correlação entre falhas na adesão de conídios de *M. anisopliae* e a baixa mortalidade de *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) Altre (1999) observou decréscimo do número de esporos de *P. fumosoroseus*/mm² de cutícula de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), sugerindo que o inseto os retira através do caminhar.

No exame das ninfas tratadas com as três espécies de fungos entomopatogênicos foi observada a germinação dos esporos (Figuras 21, 22 e 23). A partir do processo de adesão e, encontrando condições ambientais favoráveis, os conídios podem iniciar o processo de germinação. O contato entre o patógeno e a cutícula do inseto pode desencadear vários processos, como o simples fato de não germinar, produzir tubo germinativo que não penetra o inseto, produzir conidióforos que produzem conídios secundários ou endurecimento de suas paredes para formação de estruturas de resistência (ALVES, 1998).

Além das condições ambientais, o processo germinativo e de crescimento do tubo germinativo é dependente de algumas fontes nutritivas não complexas, como fontes de carbono e nitrogênio (SMITH & GRULLA, 1981). A germinação sozinha não é necessariamente responsável pela infecção. Segundo Bidochka et al. (2000), a cutícula do hospedeiro é a barreira mais complexa a ser superada pelo fungo, e isto só acontece através de processos químicos e das condições do microambiente da superfície da cutícula, que geralmente são mais favoráveis onde há a formação de pequenas depressões, que são capazes de acumular altos níveis de umidade. Os processos químicos da germinação envolvem a produção de enzimas proteolíticas e quitinolíticas, que auxiliam a transposição do tegumento do inseto, acelerando o tempo de penetração e infecção pelo fungo (CHARNLEY & ST. LEGER, 1991).

Os tipos de germinação dos conídios também podem influenciar na virulência dos fungos. Talaei-Hassanloui et al. (2006) observou correlação positiva entre a unipolaridade de germinação de conídios de *B. bassiana* e seu grau de infectividade. Altre (1999) reportou que a correlação entre a infectividade e a velocidade de germinação e tamanho dos esporos de *P. fumosoroseus* foi altamente significativa.

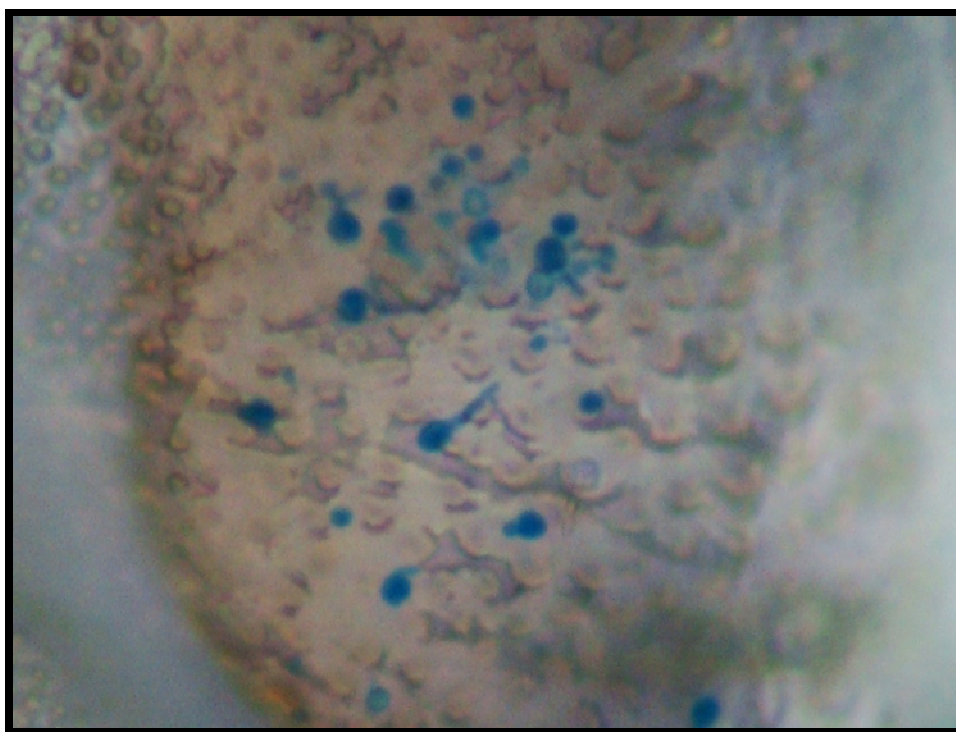


Figura 21. Germinação dos conídios de *B. bassiana* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (24 horas após a inoculação).

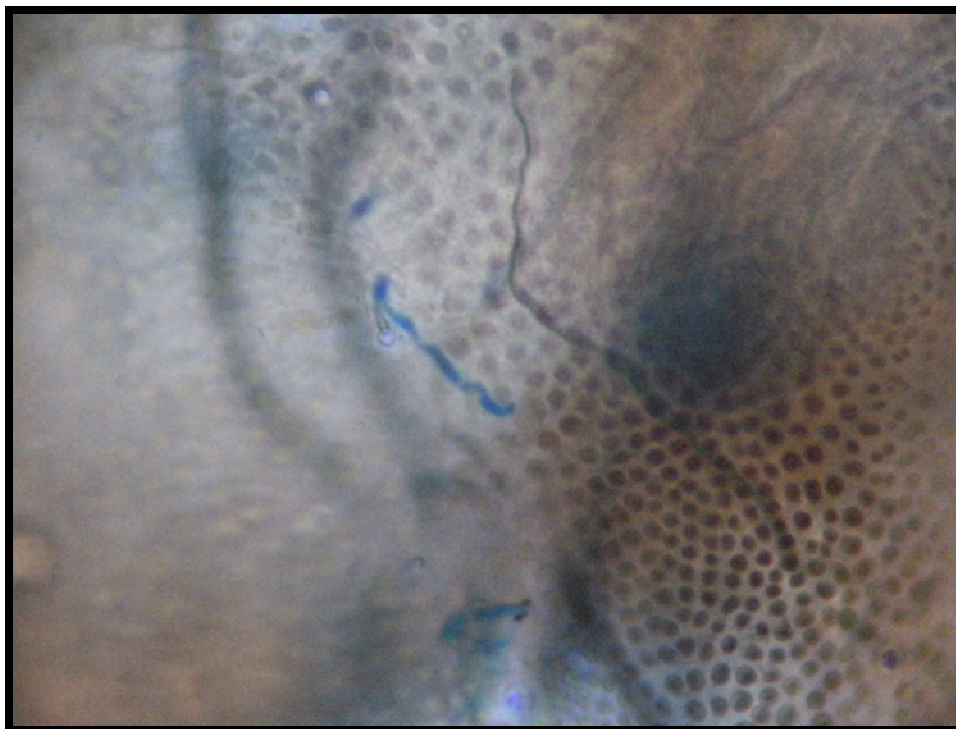


Figura 22. Germinação dos conídios de *M. anisopliae* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (24 horas após a inoculação).

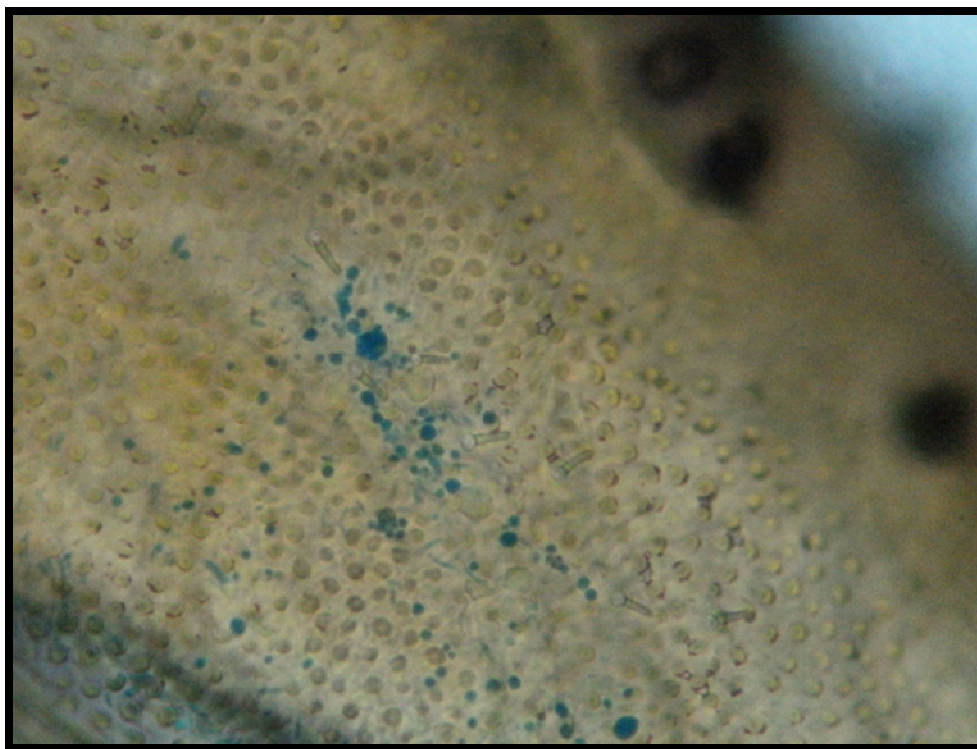


Figura 22. Germinação dos conídios de *L. longisporum* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (24 horas após a inoculação).

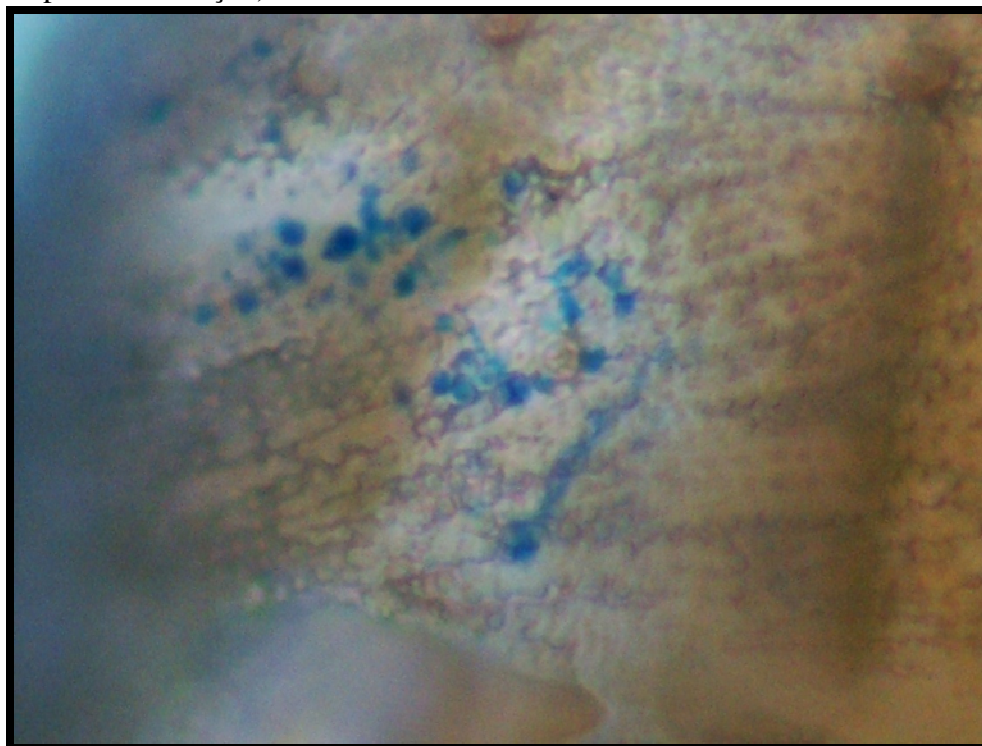


Figura 23. Penetração de *B. bassiana* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (48 horas após a inoculação).

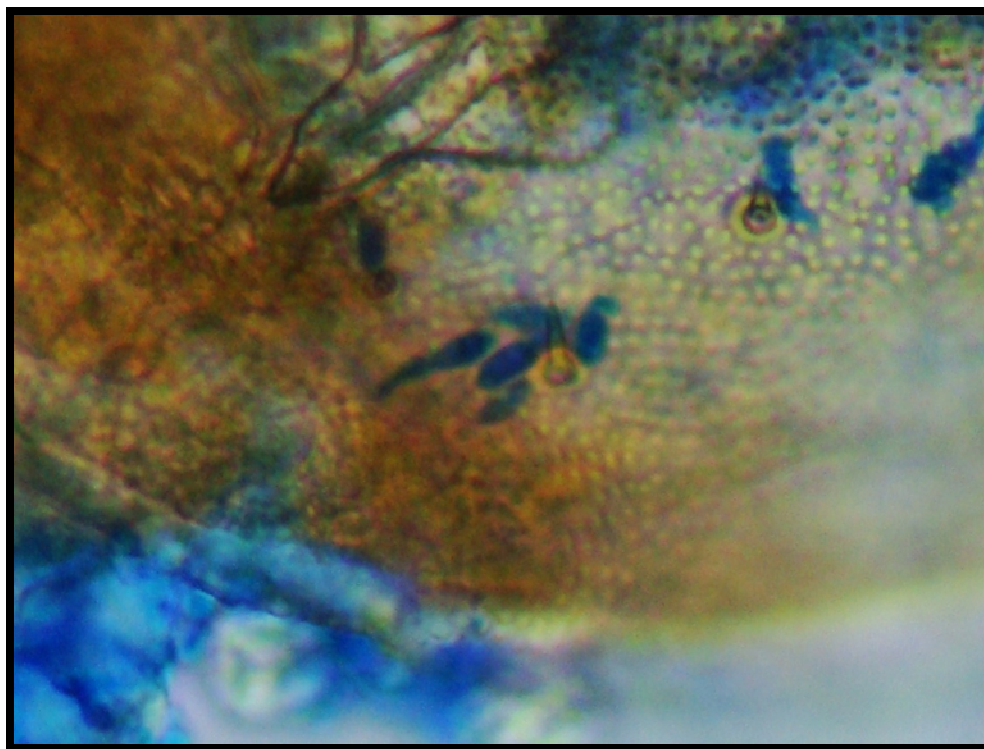


Figura 24. *M. anisopliae* ainda em processo de germinação sobre ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (48 horas após a inoculação).

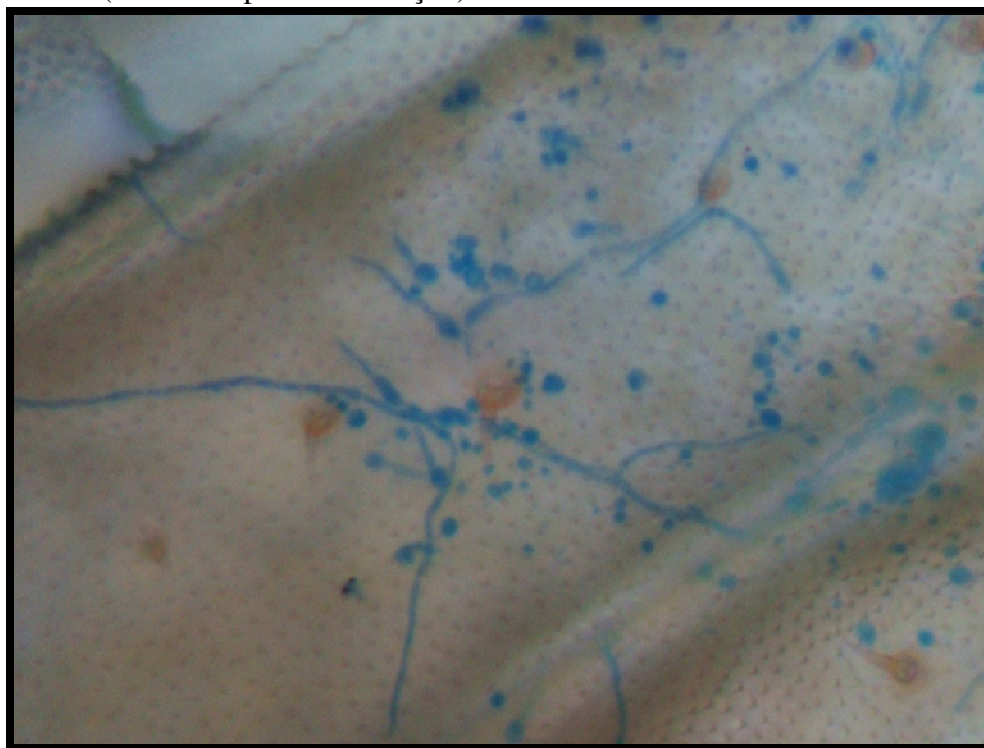


Figura 25. Penetração e início da colonização de *L. longisporum* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (48 horas após a inoculação).

A 3ª etapa do processo infectivo, que se caracteriza pela penetração dos fungos no corpo do inseto, foi observada nos ensaios realizados com as três espécies de fungos testadas nas ninfas do psíldeo-de-concha (Figura 25). Segundo Alves (1998), o processo de penetração envolve dois processos, o mecânico, através da pressão exercida pela hifa terminal no tegumento do inseto, e o químico, resultante da elaboração de enzimas que auxiliam a penetração mecânica do fungo. As Figuras 23 e 25 apresentam conídios dos fungos *B. bassiana* e *L. longisporum* em fase de germinação e penetração, sendo que *L. longisporum* já apresenta a fase de colonização, 48 horas após a inoculação. Molina (2007) analisando o ciclo infectivo de *L. longisporum* na cochonilha *Orthezia praelonga*, também relatou que a colonização do inseto ocorreu 48 horas após sua contaminação, sendo uma característica deste fungo a sobreposição de fases.

Padulla (2007) analisando o ciclo infectivo de *B. bassiana* em ninfas de *Diaphorina citri* através de microscopia eletrônica de varredura observou que a penetração do fungo no tegumento do inseto também ocorreu às 48 horas. No entanto, foram encontrados conídios em processo de germinação até nas avaliações de 72 horas após a contaminação do inseto.

No caso do fungo *M. anisopliae*, todas as ninfas observadas apresentaram conídios no máximo ainda desenvolvendo ou engrossando o tubo germinativo, tanto para as imagens feitas às 24 horas, quanto para as feitas 48 horas após a germinação. Melo et al. (2007), ao estudarem o ciclo de *M. anisopliae* e *B. bassiana* na pulga *Ctenocephalides felis felis*, através da análise em microscopia eletrônica de varredura, relatou que não foi possível a observação do apressório e do grampo de penetração do fungo *M. anisopliae*, no entanto, o fato do fungo desenvolver-se até a formação da colônia sugere que todas as etapas tenham sido realizadas. Estes autores também observaram o engrossamento e as ramificações das hifas de *M. anisopliae* após 24 horas. Outra hipótese, é que essa atividade tenha ocorrido sob o conídio (PADULLA, 2007).

Todas as ninfas observadas no intervalo de 0 a 48 horas estavam vivas, porém as inoculadas pelos fungos *B. bassiana* e *L. longisporum* com os movimentos mais lentos quando tocadas com pincel.

Na avaliação de 72 horas os tratamentos *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentaram mortalidade de 100%. Enquanto as ninfas tratadas com *L. longisporum* apresentaram mortalidade próxima a 70%.

O fungo *B. bassiana* apresentou duas fases de desenvolvimento na avaliação de 72 horas, com extrusão micelial e formação de conidióforos e conídios sobre as ninfas de *G. brimblecombei* (Figuras 26 e 27). Padulla et al. (2005) relatou que a conidiogênese de *B. bassiana* não ocorre sobre ninfas de *D. citri*, apenas em insetos adultos. Subandiyah et al. (2000) observou comportamento semelhante dos fungos *Hirsutella citriformis* e *P. fumosoroseus* em ninfas do mesmo inseto.

Os fungos *M. anisopliae* e *L. longisporum* apresentaram apenas a formação de conidióforos no intervalo de 72 horas (Figuras 28 e 29). Na pulga *C. felis felis* Melo et al. (2007) observaram que a conidiogênese dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* ocorreu 96 horas após a aplicação dos fungos.

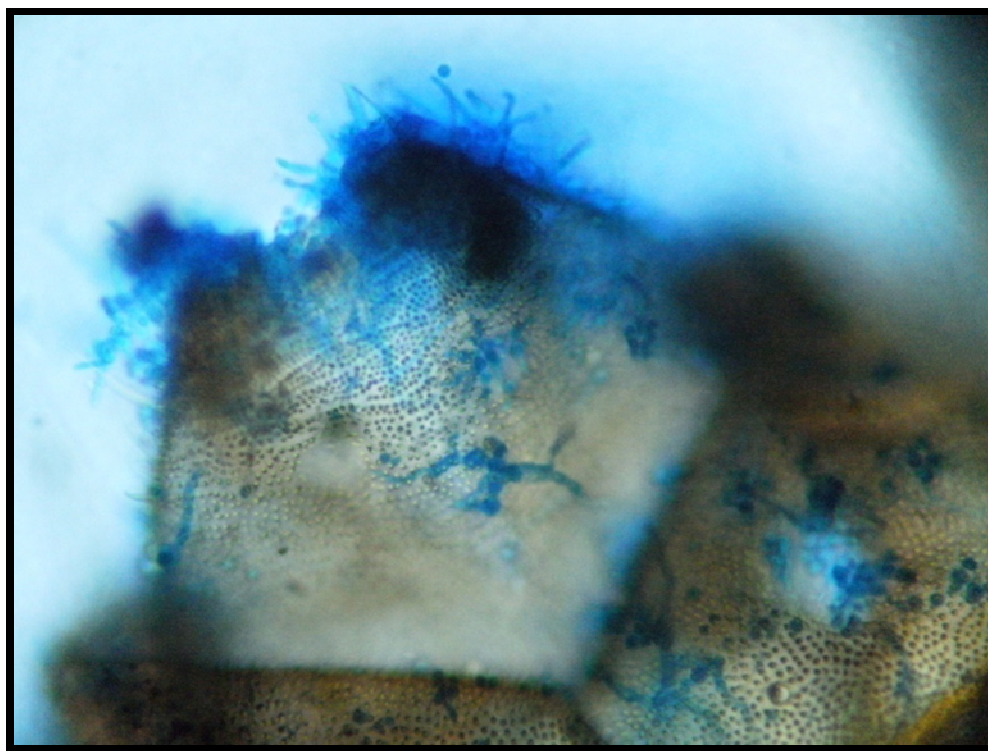


Figura 26. Extrusão do micélio de *B. bassiana* na região da abertura anal da ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (72 horas após a inoculação).

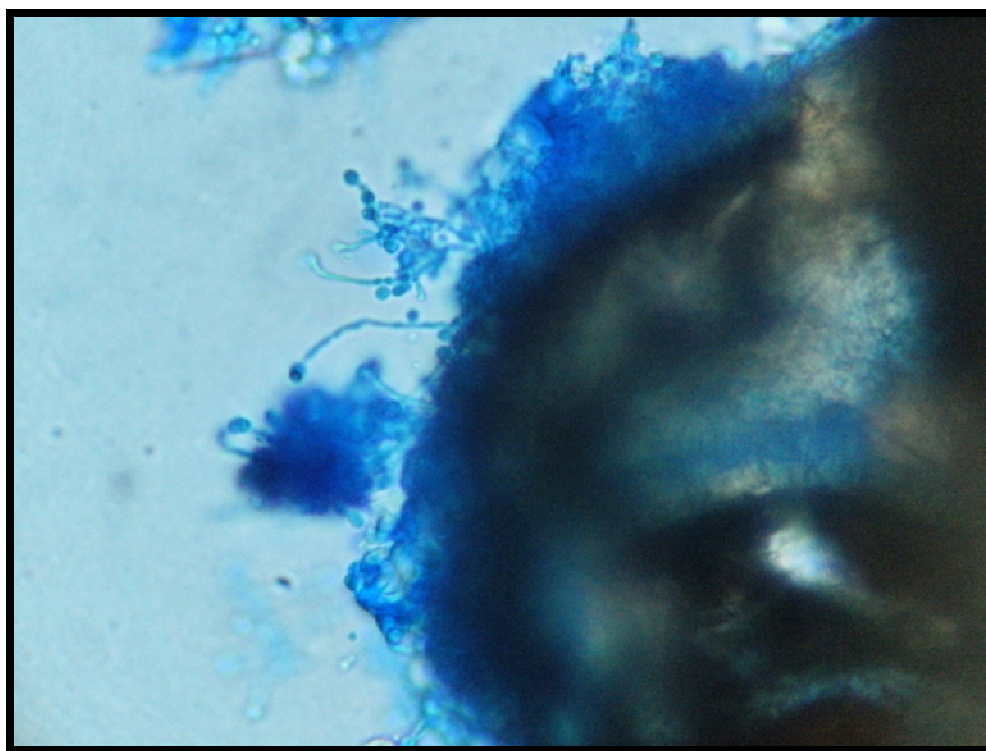


Figura 27. Formação do conidióforo e conídios de *B. bassiana* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (72 horas após a inoculação).

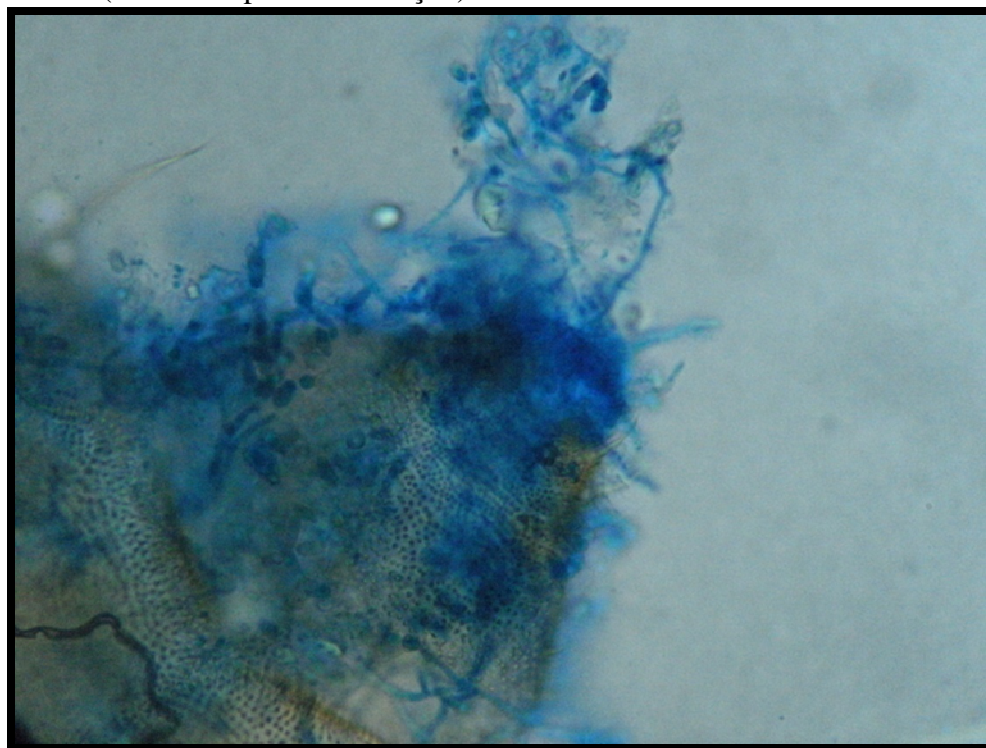


Figura 28. Formação de conidióforos de *M. anisopliae* em ninfa de *G. brimblecombei* (72 horas após a inoculação).

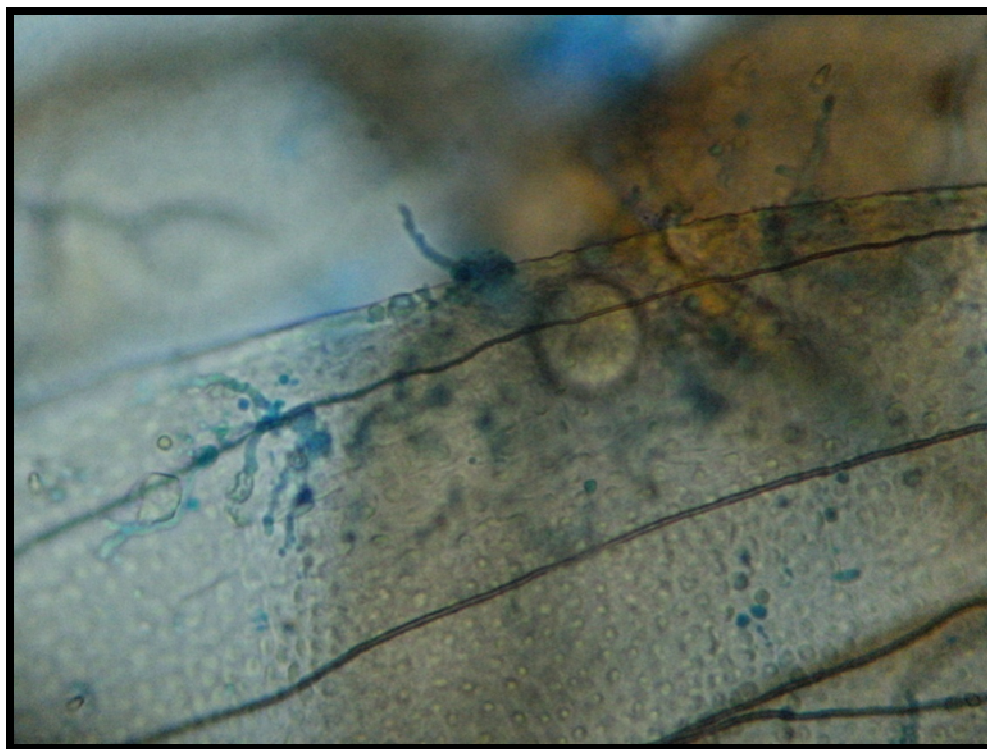


Figura 29. Formação de fiálides de *L. longisporum* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (72 horas após a inoculação).

Por fim, nas avaliações de 144 horas foi possível observar todas as estruturas reprodutivas das três espécies de fungo, indicando que estes completaram seu ciclo nas ninfas de *G. brimblecombei*.

Estes dados são interessantes do ponto de vista da transmissão horizontal, pois a formação de estruturas reprodutivas como os conídios ou conidióforos favorecem a dispersão do patógeno e a possibilidade do estabelecimento de epizootias.

Foi observada a conidiogênese de *B. bassiana* sobre as ninfas de *G. brimblecombei* (Figura 30). Para *M. anisopliae* e *L. longisporum* foram verificadas a formação da fiálide e conidiogênese nas ninfas do psilídeo-de-concha (Figuras 31, 32 e 33).

É interessante salientar que, pelo corante utilizado para marcação das estruturas dos fungos (lacto glicerol), as imagens da avaliação de 144 horas ficaram tomadas pela cor azul (Figuras 31, 32 e 33), indicando que os corpos das ninfas ficaram tomadas pelas estruturas dos fungos.

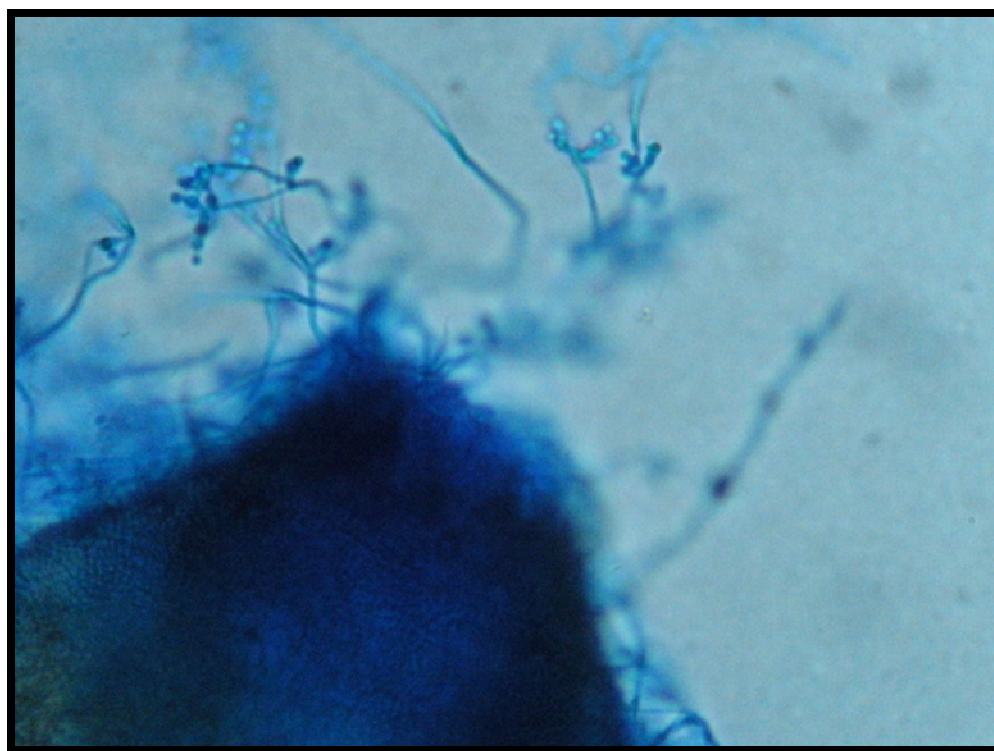


Figura 30. Formação do conidióforo e conídios de *B. bassiana* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (144 horas após a inoculação).

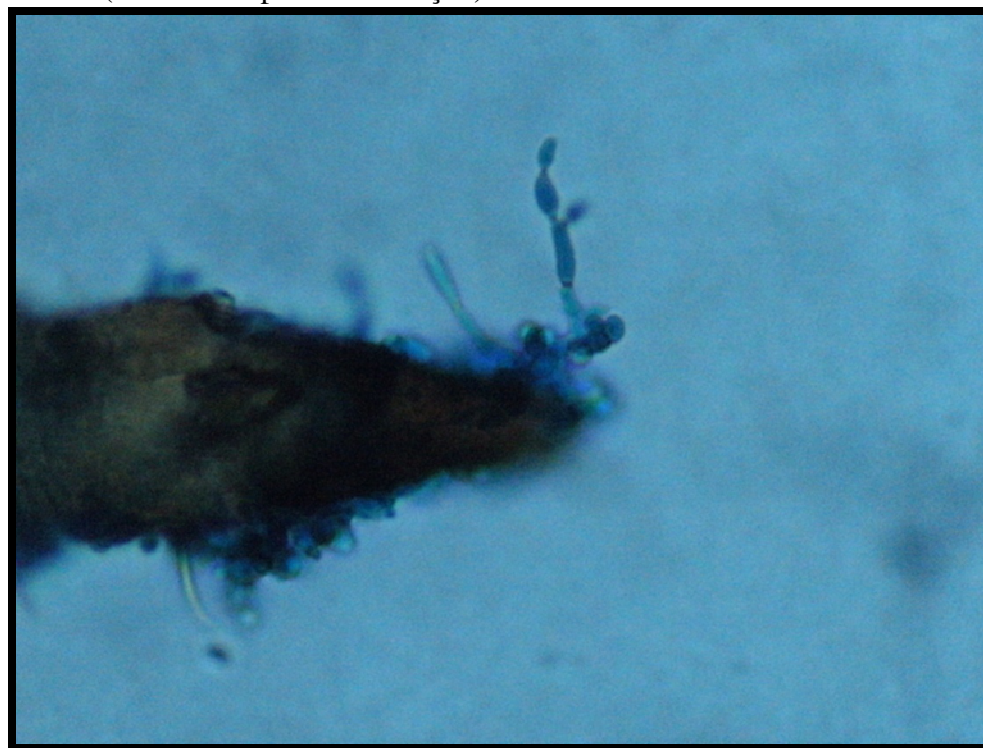


Figura 31. Formação da fiálide de *M. anisopliae* na antena da ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (144 horas após a inoculação).

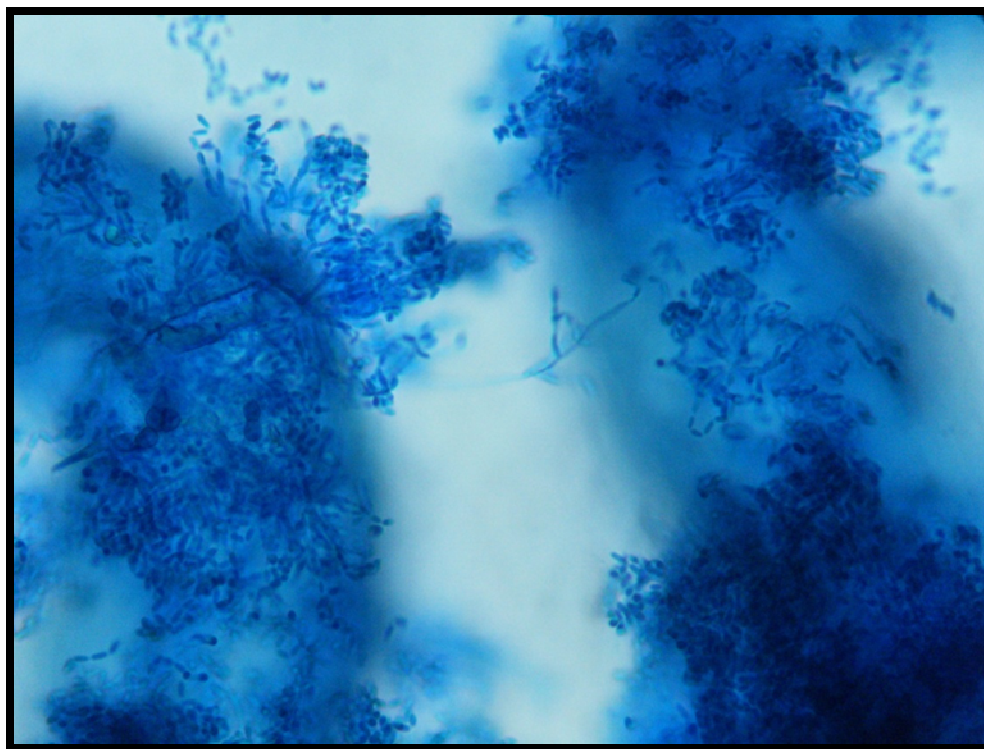


Figura 32. Formação de conidióforo e conídios de *M. anisopliae* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (144 horas após a inoculação).

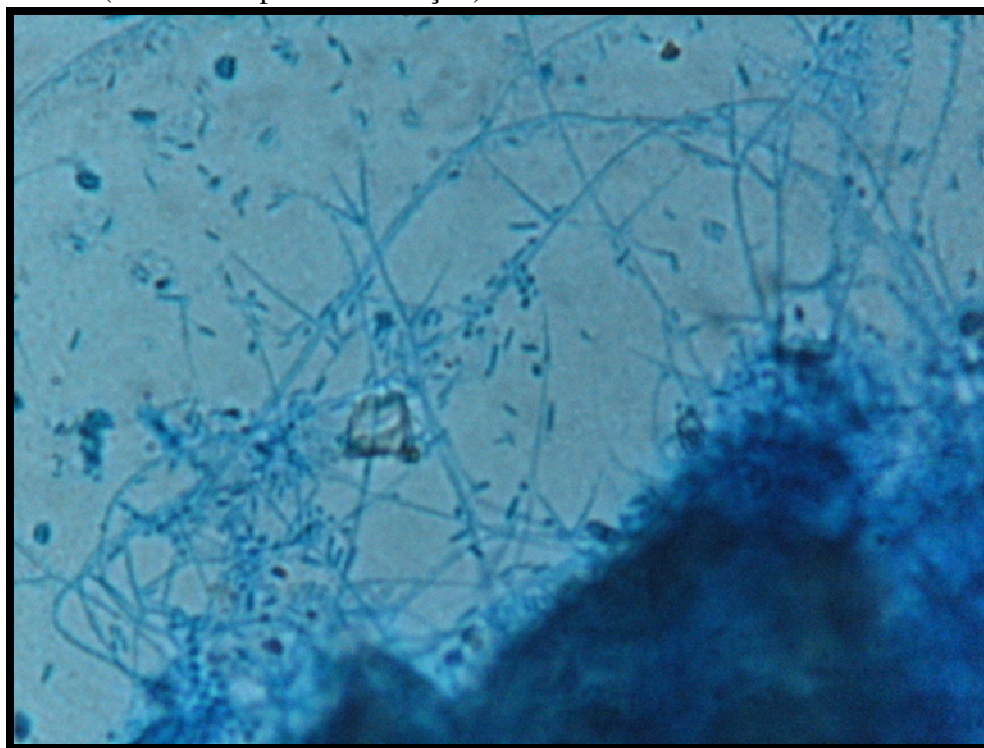


Figura 33. Formação de conidióforo e conídios de *L. longisporum* em ninfa de *Glycaspis brimblecombei* (144 horas após a inoculação).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelo aumento significativo dos danos causados por *Glycaspis brimblecombei* em plantios comerciais de eucalipto, observado desde sua introdução em 2003 até os dias atuais, sugere-se que este inseto ainda possa estar em processo de adaptação às condições ambientais brasileiras. A principal tática de controle do psilídeo-de-concha é o controle biológico com o parasitóide exótico *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). O parasitóide tem mantido baixas a população da praga nos estados do Sul e parte da região sudeste, principalmente em São Paulo e Espírito Santo. Entretanto, nos estados da região central do Brasil, como Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, a praga continua causando danos expressivos, causando mortalidade de 30 a 40 % de árvores em espécies e clones de eucalipto suscetíveis. Aparentemente, o parasitóide não tem se adaptado nessa região, principalmente no período mais propício da praga, nos meses mais secos (WILCKEN, comunicação pessoal).

Paralelamente, nos últimos anos a área plantada com eucalipto no país tem crescido em proporções significativas, motivado pela demanda mundial de produtos madeiros, inclusive fontes de energia renovável, culminado na homogeneização destas áreas e que, como conseqüências, podem acarretar o aparecimento de novas espécies de pragas ou aumentar consideravelmente as populações dos insetos que já são danosos, porém, em menor proporção.

Contrariamente a este cenário, o apelo de órgãos ambientais nos últimos anos pelo uso cada vez mais restrito de agroquímicos tem aumentado consideravelmente, sustentado por um uso mais racional e declinante desses produtos.

Diante deste contexto, medidas de controle que causam pouco ou nenhum impacto ao meio ambiente ganham cada vez mais destaque e o controle microbiano vêm despontando, ao longo dos últimos anos, como tática promissora.

Particularmente aos resultados do presente estudo, servem apenas como alicerce inicial para o balizamento do desenvolvimento de novas pesquisas, principalmente em condições de campo, pois os plantios de eucalipto, juntamente com o psilídeo-de-concha, estão presentes em praticamente todos os estados do país, o que demanda resultados pontuais para cada região.

O trabalho em conjunto com instituições que detenham bancos de patógenos também pode ser um caminho interessante, pois os produtos estudados nesta pesquisa representam uma quantia ínfima da grande variedade de isolados e outras tantas formulações comerciais de fungos entomopatogênicos disponíveis no mercado.

O manejo de pragas com entomopatógenos na área florestal já vivenciou experiências promissoras no Brasil, com bons resultados obtidos no controle do gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae), que juntamente com a aplicação polvilhada do fungo *Beauveria bassiana* e com o parasitóide de ovos específico desta praga *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae), conseguiram reduzir e manter a população dessa praga a níveis muito baixos.

Analogamente, o controle de *G. brimblecombei* com entomopatógenos, associados ao seu parasitóide específico *Psyllaephagus bliteus*, que é a principal forma de controle desta praga atualmente, devem ser estudados mais aprofundadamente. Iniciando, principalmente, com estudos sobre a compatibilidade entre estes dois agentes de controle e regionais para a seleção dos melhores isolados. A associação de diferentes agentes de controle é um dos objetivos do manejo integrado de pragas e, provavelmente, será o caminho a ser trilhado para o sucesso do controle efetivo do psilídeo-de-concha do eucalipto.

6 CONCLUSÕES

- Os produtos comerciais dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Lecanicillium longisporum*, nas condições de laboratório, foram patogênicos às ninfas de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae).
- Nas condições de semicampo, os produtos a base de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* da empresa Toyobo aplicados na forma polvilhada e *Metarhizium anisopliae* (Metarril WP) aplicado na forma pulverizada foram considerados eficientes no controle das ninfas de *G. brimblecombei*.
- Os fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Lecanicillium longisporum* foram capazes de completar seu ciclo biológico nas ninfas de *G. brimblecombei* nas condições de laboratório.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, n.2, p.265-267. 1925.

ABRAF. Anuário estatístico da Abraf 2008 – Ano base 2007. Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. 2008. Disponível em: <http://www.abraflor.org.br/estatisticas/ABRAF08-BR.asp>. Acessado em: 9-jan-2009.

ALTRE, J. A.; VANDENBERG, J. D.; CANTONE, F. A. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella*: correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.73, n.3, p.332-338, 1999.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. Ed. Piracicaba: Fealq, 1998. 1163p.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1986. 407p.

ANDERSON, L.; LEWIS, L. C. Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. **Environmental Entomology**, v.20, n.5, p.1207-1211, 1991.

ASKARY, H.; CARRIÉRE, Y.; BÉLANGER, R. R.; BRODEUR, J. Pathogenecity of the fungus *Verticillium lecanii* to aphids and powdery mildew. **Biocontrol Science and Technology**, v.8, n.1, p.23-32, 1998.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.24, n.2, p.405-408, 1995.

BELL, J. V.; HAMALE, R. J. Comparative mortalities between field-collected and laboratory-reared wireworm larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.18, n.1, p.150-151, 1971.

BERTI FILHO, E.; COSTA, V.A.; ZUPARKO, R.L.; LASALLE, J. Ocorrência de *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) no Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba. v.78, n.3, p.304, 2003.

BIDOCHKA, M. J.; KAMP, A.M.; AMRITHA DE CROOS, J. N. Insect pathogenic fungi: from genes to populations. In: KRONSTAD, J. W. **Fungal pathology**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2000. p.171-193.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C.; LATGE, J. P. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, n.7, p.1795-1805, 1988.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J.C. Attachment of mycopathogens to cuticle. The initial event of mycosis in arthropods hosts. In: COLE, G.T.; HOCH, H. C. In: **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum Press, 1991. p.101-127.

BOUCIAS, G. G.; BRADFORD, D. L.; BARFIELD, D. Susceptibility of velvetbean caterpillar and soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to *Nomuraea rileyi*: Effects of pathotype, dosage, temperature, and host age. **Journal of Economic Entomology**, v.77, n.1, p. 247-253, 1984.

BUTT, T. M. et al. The germination behaviour of *Metarhizium anisopliae* on the surface of aphid and flea beetle cuticles. **Mycological Research**, v.99, n.1, p.945-950, 1995.

BUTT, T.M.; GOETTEL, M.S. Bioassays of entomogenous fungi. In: NAVON, A.; ASCHER, K. R. S. **Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes**. London: Cab International, 2000. p.141-196.

CARNE, P. B.; TAYLOR, K. L. Insect pests. In: HILLIS, W. E.; BROWN, A. G. **Eucalyptus for wood production**. 2. ed. Melbourne: Csiro, 1984. p.155-168.

CARSWELL, I.; COSTA; JARONSKI, R.J. Laboratory susceptibility of *musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) and *Bractocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae) to an isolate of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin. **Australian Journal of Entomology**. v.37, n.4, p.281-284, 1998.

CASSIANO, J.A.; DESTEFANO, R.H.R.; BARACHO, M.S.; NAAS, I.A.; SALGADO, D.D. Método estatístico para análise de adesão do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (cascudinho) em instalações avícolas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n.5, p.348-353, 2008.

CASTALDI, R.; NICOLI, G. *Verticillium lecanii*. **Informatore Fitopatologico**, v.43, n.10, p.20-24, 1993.

CHARNLEY, A.K.; ST LEGER, R.J. The role of cuticle-degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. In: COLE, G. T.; HOCH, H. C. **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum Press, 1991. p.267-286.

CHAUZAT, M. P.; PURVIS, G.; DUNNE, R. Release and establishment of a biological control agent, *Psyllaephagus pilosus*, for eucalyptus psyllid (*Cteranytaina eucalypti*) in Ireland. **Annals of Applied Biology**, v.141, n.3, p.293-304, 2002.

CIBRIÁN-TOVAR, D.; PADILLA, V.J.A.; ROA, J.A.; PÉREZ, I.L.; MACÍAS, B.D.J.; GRANADOS, A.M.C.; MARTÍNEZ, W.S. **Introducción y antecedentes sobre *Glycaspis***

brimblecombei y de su parasitoide *Psyllaephagus bliteus*. Manual Técnico Operativo-Tema I. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales, s.d. 85p.

CORREIA, A.C.B.; FIORIN, A.C.; MONTEIRO, A.C.; VERÍSSIMO, C.J. Effects of *Metarhizium anisopliae* on the tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in stable cattle. **Journal Invertebrate Pathology**, v.71, n.2, p.189-191, 1998.

COUTINHO, J.L.B.; OLIVEIRA, J.V. Patogenicidade do isolado I-149Bb de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. a adultos de *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.20, n.1, p.199-207, 1991.

COUTINHO, J.L.B.; CAVALCANTI, V.A.L.B. Utilização do fungo *Beauveria bassiana*, no controle biológico do bicudo-do-algodoeiro em Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.23, n.5, p.455-461, 1988.

DAHLSTEN, D.L.; DREISTADT, S.H.; GARRISON, R.W.; GILL, R.J. Pest notes: Eucalyptus red gum lerp psyllidae. **University of Califórnia Agricultural Natural Resources Publications**. n.7460, p.1-4, 2003. Disponível em: <<http://www.ipm.ucdavis.edu>>. Acesso em: 07 jan. 2008.

DAHLSTEN, D.L.; ROWNEY, D.; COOPER, W.A; TASSAN, R.L.; CHANEY, W.E.; ROBB, K.L.; TJOSVOLD, S.; BIANCHI, M.; LANE, P. Parasitoid wasp controls glue gum psyllid. **California Agriculture**, v.52, n.1, p.31- 34, 1998.

DAL POGETTO, M.H.F.A.; VOMERO, P.A.S.Z.; PRADO, E.P.; CHRISTOVAM, R.S.; AGUIAR JUNIOR, H.O.; WILCKEN, C.F.; RAETANO, C.G. Pulverização de *Beauveria bassiana* com aeronave agrícola no controle de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) em florestas de eucalipto. In: Simpósio de Tecnologia de Aplicação de Agrotóxicos, 4, 2008, Ribeirão Preto. **Artigos**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008a.

DAL POGETTO, M.H.F.A.; FERREIRA FILHO, P.J.; LIMA, A.C.V.; PRADO, E.P.; AGUIAR JUNIOR, H.O.; CHRISTOVAM, R.S.; MATEUS, G.S.; ABDALA, M.C.; DIAS, T.K.R.; WILCKEN, C.F. Eficiência da pulverização e do polvilhamento de *Beauveria*

bassiana no controle de *Glycaspis brimblecombei* em mudas de eucalipto. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 22, 2008, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: 2008b.

DAL POGETTO, M.H.F.A.; LIMA, A.C.V.; FERREIRA FILHO, P.J.; COUTO, E.B.; SÁ, L.A.N.; NEVES, E.; WILCKEN, C.F. Monitoramento do psílídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seus inimigos naturais em florestas de eucalipto. 2 - Região de Curvelo-MG. 2004-2005. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 13, 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: 2005.

DAL POGETTO, M.H.F.A.; WILCKEN, C.F.; FERNANDES, D.M.; COUTO, E.B.; FIRMINO-WINCKLER, D.C.; LIMA, A.C.V.; FERREIRA FILHO, P.J.; OLIVEIRA, N.C. Influência da aplicação de diferentes doses de nitrogênio e potássio em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* na biologia de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 21, 2006, Recife. **Anais...** Recife. 2006.

DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN (DOF). 2002 Norma oficial mexicana de emergencia NOM-EM-002REC/NAT-2002, que establece los lineamientos técnicos para el combate y control del psílido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei*. Disponível em: http://www.gobernacion.gob.mx?dof/2002/febrero_11-02-2002.pdf Acessado em: 11 jan 2009.

DREISTADT, S.H.; DAHLSTEN, D.L. Pest notes: Psyllids. **University of California Agricultural Natural Resources Publications**, n.7423, p.1-6, 2001. Disponível em:<<http://www.ipm.ucdavis.edu>>. Acesso em: 11 dez. 2009.

ELLIOTT, H.J.; OHMART, C.P.; WYLIE, F.R. **Insect pests of Australian forests.** Melbourne, Inkata Press. 1998. 214p.

FARGUES, J.; RODRIGUEZ-RUEDA, D. Sensibilité des larves de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) aux hyphomycètes entomopathogènes *Nomuraea rileyi* et *Pacilomyces fumosoroseus*. **Biocontrol**, v.25, n.1, p.43-54, 1980.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação atual e perspectivas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n.22, p.18-21, 2001.

FAVARO, R.M.; ZANOL, K.M.R.; SANTANA, D.L.Q.; LEITE, M.S.P.; FERNANDES, B.V.; ANDRADE, H.B. Uso de fungos entomopatogênicos para controle do psilídeo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), em plantios de *Eucalyptus camaldulensis* em Paraopeba, MG. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 21, **Anais...** Recife, 2006.

FAVARO, R.M. **Aspectos bionômicos de *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae) e seu controle com fungos entomopatogênicos.** 2006. 43 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FENG, M. G.; JOHNSON, J. B.; KISH, L. P. Virulence of *Verticillium lecanii* and aphid-derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) for six species of cereal aphids (Homoptera: Aphididae). **Environmental Entomology**. v.19, n.3, 815-820, 1990.

FENG, MING-GUANG; POPRAWSKI, T. J.; KHACHATOURIANS, G. G. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. **Biocontrol Science and Technology**. v.4, n.1, p.3-34, 1994.

FERREIRA FILHO, P.J.; WILCKEN, C.F.; OLIVEIRA, N.C.; DAL POGETTO, M.H.F.A.; LIMA, A.C.V. Dinâmica populacional do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em floresta de *Eucalyptus camaldulensis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.8, p.2109-2114, 2008.

FERREIRA FILHO, P.J.; COUTO, E.B.; WILCKEN, C.F.; MATOS, C.A.O.; DAL POGETTO, M.H.F.A. Flutuação populacional do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) em diferentes espécies de eucalipto. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 20, **Anais...**, Gramado, p.457, 2004.

FERRON, P. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: BURGESS, H. D. **Microbial control of pests and plant diseases**. New York: Academic Press, 1981, p. 465-482.

FERRON, P. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. **Annual Review of Entomology**, v.23, p. 409-442, 1978.

FINNEY, D. J. **Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve**. Cambridge: University Press, 1964. 318 p.

FIRMINO, D. C. **Biologia do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Morre (Hemiptera: Psyllidae) em diferentes espécies de eucalipto e em *Eucalyptus camaldulensis* sob diferentes temperaturas**. 2004. 57 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

FRANK, W.A.; SLOSSER, J.E. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin to control over wintering boll weevils, *Anthonomus grandis* Boheman. **Southwestern Entomologist**, v.15, n.1, p.77-78, 1990.

FREITAS, F. M. R. et al. Controle biológico da mosca branca (*Bemisia* sp.) pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. In: Congresso Brasileiro de Micologia, III, Águas de Lindóia, 2001. **Anais...**, Sociedade Brasileira de Micologia, p.43, 2001.

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.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920 p.

GARRISON, R.W. New agricultural pest for Southern California; redgum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei*. **Los Angeles County Agricultural Commissioner's Office**, 1998. 2p.

GASSEN, M. H. **Patogenicidade de fungos entomopatogênicos para o psílídeo da goiabeira *Triozoida* sp. (Hemiptera: Psyllidae) e compatibilidade de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre estes agentes de controle biológico.** 2006. 110 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

GILL, R. J. New state records: Redgum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei*. **California Pest and Disease**, p.7-8, 1998.

GLARE, T. R. Biotechnological potential of entomopathogenic fungi. In: ARORA, D. K. **Fungal biotechnological in agricultural, food and environmental applications.** New York: Marcel Dekker, 2004. p.79-90.

GLARE, T. R.; MILNER, R. J. Ecology of entomopathogenic fungi. ARORA, D. K.; AJELLO, L.; MUKERJI, L. G. In: **Handbook of applied mycology: humans, animals, and insects.** New York: Marcel Dekker, 1991, p.547-612.

GOETTEL, M.S.; POPRAWISKY, T.J.; VANDENBERG, J.D.; LI, Z.; ROBERTS, D.W. Safety to non target invertebrates of fungal biocontrol agents. In: LAIRD, M.; LACEY, L.A.; DAVIDSON, E.W. (Eds). **Safety of microbial inseticides.** Boca Raton: Press, 1990. p.209-231.

GOETTEL, M.S.; VANDENBERG, J.D.; DUKE, G.M.; SCHAALJE, G.B. Susceptibility to chalkbrood of alfafa leafcutter bees, *Megachile rotundata*, reared on natural and artificial provisions. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.61, n.1, p.58-61, 1993.

GOETTEL, M.S.; ST. LEGER, R.J.; RIZZO, N.W.; STAPLES R.C.; ROBERTS D.W. Ultrastructural localization of cuticle-degrading protease produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* during penetration of host (*Manduca sexta*) cuticle. **Journal of General Microbiology**, v.135, n.8, p.2233-2239, 1989.

GOETTEL, M.S.; INGLIS, G.D.; WRAIGHT, S.P. Overview of pathogen groups: fungi. In: LACEY, L. A.; KAYA, H. K. **Field manual of techniques in invertebrate pathology.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000, p.255-282.

GOULD, F.; MASSEY, A. Cucurbitacins and predation of the spotted cucumber beetle, *Diabrotica undecimpunctata howardi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.36, n.3, p.273-238, 1984.

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

HAJEK, A.E. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. **Advances in Microbial Ecology**, v.15, p.193-249, 1997.

HALBERT, S.E.; GILL, R.J.; NISSON, J.N. Two *Eucalyptus* psyllids new to Florida (Homoptera: Psyllidae). **Entomology circular**, n. 407, p.1-2, 2001. Disponível em:<http://www.hawaiiag.org/hdoa/npa/npa01-02_rpsyllid.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2009.

HALL, R.A. The fungus *Verticillium lecanii* as microbial insecticide against aphids and scales. In: BURGESS, H.D. (Ed.) **Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980**. Academic Press, London, p.483-498, 1981b.

HALL, R.A. Laboratory studies on the effects of fungicides, acaricides and insecticides on the entomopathogenic fungus, *Verticillium lecanii*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.29, n.1, p.39-48, 1981a.

HALL, R.A.; BURGESS, H.D. Control of aphids in glasshouses with the fungus *Verticillium lecanii*. **Annals of Applied Biology**, v.93, n.2, p.235-246, 1979.

HEMING, B. S. (Ed.). **Insect development and evolution**, Ithaca: Comstock Publishing Associates, 2003. 444p.

HENDERSON, C. F.; TILTON, E. W. Tests with acaricides against the brow wheat mite, **Journal of Economic Entomology**, v.48, n.1, p.157-161, 1955.

HERRERA, F.; CARBALLO, M.; SHANNON, P. Efficacy of native entomopathogenic fungal strains against *Bemisia tabaci* in the laboratory. **Manejo Integrado de Plagas**. v.54, p.577-659, 1999.

HODDLE, M.; DAHLSTEN, D.; KABASHIMA, J.; PAINE, T.; WILEN, C.; HARTIN J.; ROBB, K.; SHAW, D.; COSTA, H.; CHANEY, W. **Biology and management of the redgum lerp psyllid, *Glycaspis brimblecombei***. 2003.

HODKINSON, I. D. The biology of Psylloidea (Homoptera): a review. **Bulletin of Entomological Research**. v.2, n.64, p.325-339, 1974.

HUMBER, R. A.; HANSEN, H. S. Arsef index: Geographical origin. **USDA-ARS Plant Protection Research Unit**. New York, 2005. Disponível em: <http://arsef.fpsnl.cornell.edu> Acessado em: 7 jan. 2009.

IGNOFFO, C.M.; HOSTETTER, D.L.; GARCIA, C.; PINNELL, R.E. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* to chemicals pesticides used on soybeans. **Environmental Entomology**, v.4, n.5, p.765-768, 1975.

INGLIS, G. D.; JARONSKI, S. T.; WRAIGHT, S. P. Use of spray oils with entomopathogens. BEATTIE, A. et al. **Spray Oils Beyond 2000: sustainable pest and disease management**. New South Wales: University of Western Sydney, 2002. p.302-312.

INGLIS, G. D.; JOHNSON, D. L.; GOETEL, M. S. Effects of temperature and thermoregulation on mycosis by *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, v.7, n.2, p.131-139, 1996.

IÑIGUEZ-HERRERA, G. Control biológico de *Glycaspis brimblecombei* Moore (Homoptera: Psylloidea; Spondyliaspidae). **Tu Bosque**, n.24, p.6-8, 2001.

KAYA, G. P.; MUNYINYI, D. M. Biocontrol potential of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for tse-tse flies (*Glossina* spp.) at developmental sites. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.66, n.3, p.237-241, 1995.

KHALIL, S. K.; TÁBORSKY, Y. The effect of different media on the growth and sporulation of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas. **Agricultura Tropica et Subtropica**. v.15, p.251-268, 1982.

KIM, J.J.; LEE, M.H.; YOON, C.; KIM, H.; YOO, J.E.; KIM, K. **Control of cotton aphid and greenhouse whitefly with a fungal pathogen**. 2003. Disponível em: <<http://www.fftc.agnet.org/library/abstract/eb502b.html>>. Acesso em: 9 jan. 2009.

LECUONA, R. E.; RIBA, G. Primeiras etapas del ciclo de desarrollo de hongos entomopatógenos. **Pergamino: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária**, 1991. 30p. (Boletín de Divulgación Tecnológica, 87).

LEITE, M.S.P.; PENTEADO, S.R.C.; ZALESKI, S.R.M.; CAMARGO, J.M.M.; RIBEIRO, R.D. Seleção de isolados de *Verticillium lecanii* para controle de *Cinara atlantica*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.40, n.11, p.1141-1144, 2005.

LIMA, A.C.V.; DAL POGETTO, M.H.F.A.; COUTO, E.B.; MOSCA, Y.; SÁ, L.A.N.; FERREIRA FILHO, P.J.; WILCKEN, C.F. Monitoramento do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seus inimigos naturais em florestas de eucalipto. 1 – Região Centro-Oeste Paulista 2004-2005. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 13, 2005, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: 2005.

LIMA, E. A. L. A.; TIGANO, M. S. Citologia das estruturas leveduriformes de *B. bassiana* em meio de cultura líquido e na hemolinfa de *Spodoptera frugiperda*. **Revista de Microbiologia**, v.20, n.1, p.85-94, 1989.

LOPES, R. B.; ALVES, S. B.; TAMAI, M. A. Fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e o controle de *Frankliniella occidentalis* (Pergrande) (Thysanoptera: Thripidae) em alface hidropônico, **Scientia Agrícola**. v.57, n.2, p. 239-243, 2000.

LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; ALVES, S. B. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* no controle de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 19, 2002, Manaus. **Anais...** Manaus: 2002.

LOUREIRO, E. de S.; MONTEIRO, A. C. Seleção de isolados de *Beauveria*, *Metarhizium Anisopliae* e *Paecilomyces Farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta Sexdens Sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.1, p.35-40, 2004.

MACEDO, D.; ALVES, S. B.; SIGNORETTI, A. G. C. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* para cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar (*Mahanarva fimbriolata*) utilizando nova metodologia. In: Simpósio de Controle Biológico, 8, 2003, São Pedro. **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003.

MELO, D.R.; CRUZ, G.B.; REIS, ROSANA, C.S.; BITTENCOURT, V.R.E.P. Desenvolvimento dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.3, p.166-170, 2007.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M.R.; WRAIGHT, S.P. Micoínseticidas e Micoacaricidas no Brasil: Como estamos? **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, 2007. (Documento 240).

MILNER, R. J.; STAPLES, J. A.; LUTTON, G. G. The selection for an isolate of Hyphomycete fungus *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Austrália. **Biological Control**, v.11, n.3, p.240-247, 1998.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Portaria 226 22/04/2005**. 2005. Disponível em: <http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis>. Acesso em: 5 jan. 2009.

MOLINA, J. H. G. **Efeito do controle microbiano em insetos sugadores em três sistemas de manejo de pragas de citros**. 2007. 106 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

NAVON, A.; ASCHER, K. R. S. **Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes**. London: Cab International, 2000. 324p.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da Broca-do-Café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**. v.1, n.34, p.77-82, 2005.

OGER, R.; LATTEUR, G. Description et précision d'une nouvelle méthode d'estimation de la virulence d'une Entomophthorale pathogène de pucerons. **Parasitica**, v.41, n.4, p.135-150, 1985.

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

PADULLA, L. F. L. **Estudos de fungos entomopatogênicos para o controle de ninfas psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera psyllidae)**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PAINE, T.D.; DAHLSTEN, D.L.; MILAR, J.G.; HODDLE, M.S.; HANKS, L.M. UC scientists apply IPM techniques to new eucalyptus pests. **California Agriculture**, Oakland, v.54, n.6, p.8-13, 2000.

PHILLIPS, C. **Forest insect: lerp insects**. South Austrália Forestry. 1992. Disponível em:<<http://www.forestry.sa.gov.au>>. Acesso em: 12 maio 2007.

POPRAWSKI, T. J.; JONES, W. J. Host plant effects on activity of the mitosporic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against two populations of *Bemisia* whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). **Mycopathologia**, v.151, n.1, p.11-20, 2000.

XIAO-YING, P.; FENG, M.G; SHI, C.H. Impact of three application methods on the field efficacy of a *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticide against the false-eye leafhopper, *Empoasca vitis* (Homoptera: Cicadellidae) in the tea canopy. **Crop Protection**, v.24, n.2, p.167-175, 2005.

PUTERKA, G. J.; HUMBER, R. A.; POPRAWSKI, T. J. Virulence of fungal pathogens (Imperfect fungi: Hyphomycetes) to pear psylla (Homoptera: Psyllidae). **Environmental Entomology**, v.22, n.22, p.514-520, 1994.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **O Reino dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: Ed. EDUNISC. v.1. 1998.

RAMIREZ, A.L.G.; MANCERA, G.M.; GUERRA-SANTOS, J.J. **Análisis del efecto de las condiciones ambientales en la fluctuación poblacional del psílido del eucalipto en el estado de México**. Cuautitlán Izcalli: Editorial Habana, 2002. 5p.

RAMIREZ, A.L.G. **Fluctuacion poblacional del psílido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* y el efecto del control biológico con la vispa parasitóide *Psyllaephagus bliteus***. 2003. 45 f. Tesis de Maestría (Ingeniera Agrícola) - Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Cuautitlan Izcalli. México, 2003.

RAMOSKA, W. A.; TODD, T. Variation in efficacy and viability of *Beauveria bassiana* in the chinch bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a result of feeding activity on selected host plants. **Environmental Entomology**, v.14, n.2, 146-148, 1985.

ROBERTS, D.W.; ST LINGER, R.J. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. **Advances in Applied Microbiology**, v.54, p.1-70, 2004.

SAMSOM, R. A.; EVANS, H. C.; LATGÉ, J. P. **Atlas of entomopathogenic fungi**. Springer-Verlag, Netherlands, 1988. 187p.

SANCHES, B. S. **Aspectos bionómicos del psílido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera:Psylloidea:Spondyliaspidae)**. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. 76 p. Texcoco, Edo. de México, 2003.

SANTOS, G. P. Bionomia de *Oxydia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae), desfolhadora de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa. v.2, n.10, p.161-167, 1986.

SCHABEL, H. G. Oral infection of *Hylobius pales* by *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.27, n.3, p.377-383, 1976.

SHI, W.B.; FENG, M.G. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in orchards. **Biological Control**, v.39, n.2, p.210-217, 2006.

SHI, W.B.; ZHANG, L.; FENG, M.G. Time-concentration-mortality responses of carmine spider mite (Acari: Tetranychidae) females to three hypocrealean fungi as biocontrol agents. **Biological Control**, v.46, n.3, p.495-501, 2008.

SILVA, C. A. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* patogênicos ao bicudo-do-algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.36, n.2, p.243-247, 2001.

SMITH, R. J.; GRULLA, E. A. Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.37, n.3, p.222-230, 1981.

SOSA-GOMEZ, D. R.; ALVES, S. B. Temperature and relative humidity requirements for conidiogenesis of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliaceae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.29, n.35, p.515-521, 2000

ST LEGER, R.J.; BUTT. T.M.; STAPLES, R.C.; ROBERTS, D.W. Synthesis of proteins including a cuticle-degrading protease during differentiation of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Experimental Mycology**, v.13, n.3, p.253-262, 1989.

SUBANDIYAH, S.; NIKOH, N.; SATO, H.; WAGIMAN, F.; TSUYUMYU, S.; FUKATSU, T. Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Indonesia. **Mycoscience**. v.41, n.5, p.509-513, 2000.

TAKADA, H. M. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae). 2002. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

TALAEI-HASSANLOUI, R.; KHARAZI-PAKDEL, A.; GOETTEL, M.S.; LITTLE, S.; MOZAFFARI, J. Germination polarity of *Beauveria bassiana* conidia and its possible correlation with virulence. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.94, n.2, p.102-107, 2007.

TALAEI-HASSANLOUI, R.; KHARAZI-PAKDEL, A.; GOETTEL, M.S.; MOZAFFARI, J. Variation in virulence of *Beauveria bassiana* isolates and its relatedness to some morphological characteristics. **Biocontrol Science and Technology**, v.16, n.5, p.525-534, 2006.

THOMAS, M.B.; JENKINS, N.E. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviride* and virulence to the variegated grasshopper, *Zanocerus variegata*. **Mycological Research**, v.101, p.1496-1474, 1997.

UGINE, T. A.; WRAIGHT, S. T.; SANDERSON, J. P. A tritrophic effect of host plant on susceptibility of western flower thrips to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.96, n.2, p.162-172, 2007.

VEY, A.; FARGUES, J.; ROBERT, P. Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus *Metarhizium anisopliae* for Scarabaeidae larvae. **Entomophaga**, v.27, n.4, p.387-397, 1982.

WENZEL, I. M.. **Patogenicidade de *Lecanicillium lecanii* (ZIMM.) ZARE & GAMS ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) e sua compatibilidade a agrotóxicos e organismos biocontroladores utilizados na cultura do crisântemo.** 2005. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

WHITE, T. C. R. The production of amylase in the faeces of psyllidae larvae with special reference to the lerps of *Cardiapisna densitexta*. **Insect Physiology**, v.18, p.2359-2367, 1972.

WILCKEN, C.F.; DAL POGETTO, M.H.F.A.; LIMA, A.C.V.; FERREIRA FILHO, P.J.; WENZEL, I.M. Eficiência de bioinseticida à base de *Beauveria bassiana* no controle de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) em condições de laboratório. In: Siconbiol,10, 2007, Brasília. **Anais...** Brasília: 2007.

WILCKEN, C.F.; COUTO, E.B.; ORLATO, C.; FERREIRA FILHO, P.J.; FIRMINO, D.C. **Ocorrência do psílídeo de concha (*Glycaspis brimblecombei*) em florestas de eucalipto no Brasil**. 2003. Disponível em: <www.ipef.br/proteca/psilideo.html>. Acesso em: 07 jan. 2009.

WRAIGHT, S.P.; BUTT, T.M.; GALAINI-WRAIGHT, S.; ALEE, L.L.; SOPER, R.S.; ROBERTS, D.W. Germination and infection processes of the entomophthoralean fungus *Erynia radicans* on the potato leafhopper, *Empoasca fabae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.56, p.157-174, 1990.

WRIGHT, J. E. Control of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) with Naturalis-L: a mycoinsecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.86, n.5, p.1355-1358, 1993.

WRIGHT, J. E.; CHANDLER, L. D. Development of biorational mycoinsecticide: *Beauveria bassiana* conidial formulation and its application against boll weevil populations (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.4, p.1130-1135, 1992.

WRIGHT, J. E.; CHANDLER, L. D. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against the boll weevil (Curculionidae: Coleoptera). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.58, n.3, p.448-449, 1991.

YEO, H.; PELL, J.K.; ANDERSON, P.G.; CLARK, S.J.; PYE, B.J. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi on their pathogenicity to two aphids species. **Pest Management Science**, v.59, n.2, p.156-165, 2003.

YOUNG, L.C. The efficacy of micro-injected imidacloprid and oxydemeton-methyl on red gum eucalyptus trees (*Eucalyptus camaldulensis*) infested with red gum lerp psyllid (*Glycaspis brimblecombei*). **Journal of arboriculture**, v.28, n.3, p.14, 2002.

ZACHARUK, R.Y. Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera): III Penetration of the host integument. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.15, n.3, p.372-396, 1970.

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as biocontrol agent. **Pesticide Science**, v.37, n.4, p.375-379, 1993.