

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

**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.**

INAJÁ MARCHIZELI WENZEL

Engenheira Agrônoma

Orientador: Dr. Antonio Batista Filho

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP-
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor em Agronomia -
Proteção de Plantas

BOTUCATU - SP
Novembro - 2005

SUMÁRIO

RESUMO	1
SUMMARY	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) Zare & Gams.....	7
2.2 <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari: Tetranychidae).....	10
2.3. Nematóides Entomopatogênicos.....	12
2.4 Patogenicidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Insetos e Ácaros.....	14
2.5 Compatibilidade de Agrotóxicos a Fungos Entomopatogênicos.....	15
2.6 Ácaros Predadores e Seletividade de Fungos Entomopatogênicos a Inimigos Naturais.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Fungo Utilizado.....	20
3.2 Efeito de Diferentes Concentrações de <i>Lecanicillium lecanii</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	20
3.3 Compatibilidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Agrotóxicos em Condições de Laboratório e Estufa.....	22
3.3.1 Em Laboratório.....	22
3.3.2 Em Estufa.....	25
3.4 Patogenicidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> , Cultivado em Meio de Cultura contendo Inseticidas e Acaricidas, ao Ácaro Rajado <i>Tetranychus urticae</i>	25
3.5 Compatibilidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Nematóides Entomopatogênicos.....	26
3.5.1 Teste de Viabilidade.....	26
3.5.2 Teste de Infectividade.....	26
3.6 Seletividade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Ácaros Predadores.....	27
3.7 Análise Estatística.....	28

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Efeito de Diferentes Concentrações de <i>Lecanicillium lecanii</i> a <i>Tetranychus urticae</i>.....	29
4.2 Compatibilidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Agrotóxicos em Condições de Laboratório e Estufa.....	34
4.2.1 Em Laboratório.....	34
4.2.2 Em Estufa.....	45
4.3 Patogenicidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> Cultivado em Meio de Cultura contendo Inseticidas e Acaricidas, ao Ácaro Rajado <i>Tetranychus urticae</i>.....	51
4.4 Compatibilidade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Nematóides Entomopatogênicos.....	57
4.5 Seletividade de <i>Lecanicillium lecanii</i> a Ácaros Predadores.....	64
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
6. CONCLUSÕES.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* e a sua compatibilidade com agrotóxicos, nematóides entomopatogênicos e ácaros predadores. Os conídios do fungo, produzidos em arroz, foram avaliados nas concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL. A partir das porcentagens de mortalidade de *T. urticae*, que variaram entre 49 e 90% no décimo dia de avaliação, foi determinada a CL_{50} de $5,25 \times 10^6$ con./mL. A compatibilidade em laboratório foi verificada misturando-se os agrotóxicos em meio de cultura BDA e os parâmetros utilizados para a avaliação foram crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade do entomopatógeno. Em condições de estufa, as suspensões dos produtos químicos e, posteriormente, a do fungo foram pulverizadas em plantas de crisântemo. Após a aplicação, quatro folhas foram coletadas e lavadas obtendo-se uma suspensão que foi plaqueada em BDA, sendo então avaliado o crescimento das colônias do fungo. Verificou-se, em laboratório, que a maioria dos inseticidas e os acaricidas foram compatíveis ao fungo, com exceção do inseticida Thiodan[®] classificado como muito tóxico. Todos os fungicidas testados foram classificados como tóxico e muito tóxico. Em condições de estufa, no tratamento com o fungicida Rovral[®] foi observado um número de colônias fúngicas formadas compatível com a testemunha. Essa compatibilidade repetiu-se para os produtos Alto 100[®] e Thiodan[®] em alguns dos tempos avaliados. No teste de patogenicidade, os conídios produzidos em meio de cultura com inseticidas e acaricidas, a partir da compatibilidade em laboratório, não tiveram sua viabilidade afetada e foram patogênicos ao ácaro rajado *Tetranychus urticae*. Além disso, foram realizados ensaios de compatibilidade das concentrações 5×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 con./mL com os nematóides

entomopatogênicos *Steinernema* sp. (CB n6) e *Heterorhabditis indica* (CB n5). Estes mostraram-se compatíveis, sendo que a mistura, nematóide e fungo, não afetou a viabilidade dos nematóides e nem a sua infectividade em lagartas de *Galleria mellonella* nos tempos em que foram avaliados. Para a seletividade de *L. lecanii* em espécies de ácaros predadores, as concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 con./mL foram pulverizadas sobre folhas de feijão-de-porco onde os ácaros foram posteriormente colocados. A espécie *Neoseiulus barkeri* não apresentou mortalidade confirmada pelo fungo. O entomopatógeno também foi seletivo a espécie *Neoseiulus californicus*.

Palavras-chave: fungo entomopatogênico, compatibilidade, patogenicidade, *Tetranychus urticae*, ácaro predador, nematóide entomopatogênico, controle microbiano.

PATHOGENICITY OF *Lecanicillium lecanii* (ZIMM.) ZARE & GAMS TO THE TWO-SPOTTED MITE *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND ITS COMPATIBILITY WITH PESTICIDES AND BIOCONTROLLERS ORGANISMS USED IN CHRYSANTEMUM CROPS. 2005. 84p. Thesis (Doutorado em Agronomia - Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Author: INAJÁ MARCHIZELI WENZEL

Adviser: ANTONIO BATISTA FILHO

SUMMARY - The objective of this study was to evaluate the pathogenicity of *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams), isolate JAB 02, to the two-spotted mite *Tetranychus urticae* (Koch), its compatibility with agrochemical products and its selectivity to entomopathogenic nematodes and predatory mites. The pathogenicity of the fungus produced in rice to *T. urticae* was evaluated at the concentrations of 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 and 5×10^8 conidia/mL. The mortality rates of *T. urticae* ranged from 49 and 90 % in the tenth evaluation day and the LC_{50} was $5,25 \times 10^6$ conidia/mL. The compatibility in laboratory was verified by adding chemical products to the PDA media and the evaluated parameters were the vegetative growth, sporulation and viability of the entomopathogen. In greenhouse, *L. lecanii* were sprayed on chrysanthemum plants after the pulverization of the chemical products; subsequently, four leaves of each treatment were collected and washed to obtain a suspension that were transferred to PDA medium to evaluate the growth of the fungus colonies in laboratory conditions. The acaricides and the most of insecticides were compatible to the isolate JAB 02, except the insecticide Thiodan[®], which was classified as very toxic. All the evaluated fungicides were classified as toxic or very toxic. In greenhouse assays, the fungicide Rovral[®] produced a number of grown colonies similar to those of the control and this compatibility was also showed by the products Alto 100[®] and Thiodan[®] in some of the evaluated periods. In another pathogenicity test, when *L. lecanii* were grown in culture media containing the insecticides, the conidia viability were not affected and the fungus were pathogenic to *T. urticae*, with mortality rates superior to the control in some cases. Also, compatibility bioassays involving *L. lecanii* at 5×10^6 , 1×10^7 and 5×10^7 con./mL and the entomopathogenic nematodes *Steinernema* sp. (CB n6) and *Heterorhabditis indica* (CB n5)

were conducted. The fungus was compatible to the nematodes and did not affect their viability or their infectivity to *Galleria mellonella* larvae. To study the selectivity of *L. lecanii* to the predatory mites *Neoseiulus barkeri* and *Neoseiulus californicus*, fungus suspensions (5×10^6 , 1×10^7 and 5×10^7 con./mL) were sprayed on *Canavalia ensiformis* leaves, where the mites were placed later. *L. lecanii* were selective to these predatory mites and there was no confirmed mortality to *N. barkeri*, while *N. californicus* showed 10 % of confirmed mortality.

Key-words: entomopathogenic fungus, compatibility, pathogenicity, *Tetranychus urticae*, predatory mite, entomopathogenic nematode, microbial control.

1. INTRODUÇÃO

As exportações brasileiras de flores e plantas ornamentais conquistaram novo recorde no ano de 2004, apresentando um crescimento de 21% em relação ao volume de vendas do ano anterior e isso representou o ingresso de US\$ 23,5 milhões em novas divisas para o país. Em 2004 foram exportados US\$ 4,9 milhões, principalmente de flores típicas de clima temperado produzidas no Estado de São Paulo, com destaque para rosas, lisianthus, gérberas, crisântemos, lírios, entre outras. O crescimento foi de 87,2% em relação a 2003. Para 2005, as previsões são de um novo incremento nos valores de exportações que deverão ficar entre US\$ 28,2 e 30,6 milhões (JUNQUEIRA & PEETZ, 2005).

O crisântemo é cultivado há mais de 2.500 anos na China e é considerado como uma das plantas chinesas nobres. Existem mais de 100 espécies e 800 variedades comercializadas no mundo. Sua propagação se dá por estacas e sementes, em estufas, originando flores o ano inteiro. Esta planta vem conquistando cada dia mais espaço no mercado brasileiro, devido a sua diversidade de formas, tamanhos, cores e até aromas (FONTANA, 2005). Entretanto, seu cultivo em estufas favorece a proliferação de doenças e pragas devido às condições adequadas de temperatura, luminosidade, umidade e abundância de alimento. Dentre as pragas, destaca-se o ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) que é responsável por causar danos morfológicos e fisiológicos nas plantas, além de danificá-las visualmente influenciando diretamente seu preço de comercialização.

Assim, para que as plantas ornamentais brasileiras ganhem espaço no mercado exterior e possam ser exportadas, algumas exigências devem ser respeitadas pelos

produtores como a ausência de pragas e de resíduos de agrotóxicos. Então, para cumprir essas exigências há necessidade de um controle alternativo, haja vista que, atualmente, o controle é quase exclusivamente realizado através de pulverizações de produtos químicos.

O controle fitossanitário realizado, tendo como base o uso de produtos de natureza química, foi crescendo principalmente pela facilidade de aplicação e disponibilidade de equipamentos e serviços no mercado (TAMAI et al., 2002). Entretanto, o uso indiscriminado de pesticidas, sem considerar a relação nível de dano econômico e população do inseto, foi responsável pelos desequilíbrios biológicos nas grandes culturas, olerícolas e também em plantas ornamentais, contribuindo para o aumento da população de pragas e a redução da produtividade, causando efeitos adversos ao homem e ao meio ambiente (LOUREIRO, 2001).

Os resíduos de pesticidas no ambiente e nos alimentos tornou-se uma preocupação constante. Além disso, a exigência dos consumidores pela demanda de alimentos livres de pesticidas também aumentou. Por isso, muitos países estão tentando reduzir seu uso e o controle biológico aparece como um método alternativo de controle (KIM et al., 2001). O crescente uso de produtos biológicos vem sendo observado anualmente e isso pode ser explicado pela busca de produtos fitossanitários que minimizem os danos à saúde do agricultor, do consumidor e ao ambiente (ALMEIDA, 2001).

Os fungos entomopatogênicos já vêm sendo utilizados com sucesso na supressão de várias pragas em diferentes culturas. Nos plantios em estufa, a condição se torna mais favorável devido à possibilidade de controlar a temperatura e a umidade que podem facilitar a atuação do patógeno sobre as pragas. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams já é usado em vários países principalmente para o controle de pragas de cultivo protegido e se torna uma excelente alternativa ao uso de agrotóxicos.

Este trabalho teve os seguintes objetivos: avaliar a patogenicidade de diferentes concentrações de conídios do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii* a *Tetranychus urticae*; avaliar, em condições de laboratório e estufa, a compatibilidade de agrotóxicos utilizados em crisântemo ao isolado JAB 02 de *L. lecanii*; avaliar a patogenicidade de conídios de *L. lecanii*, produzidos em meios de cultura contendo inseticidas e acaricidas, ao ácaro rajado *T. urticae*; avaliar a compatibilidade do fungo com nematóides entomopatogênicos e avaliar a seletividade do fungo a espécies de ácaros predadores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams

As pragas que infestam culturas desenvolvidas em estufas são controladas através de métodos biológicos em 5% dos 300 mil hectares de cultivo protegido existente em todo o mundo (VAN LENTEREN, 2000). Entretanto, este número é pequeno por ser uma das principais áreas para a produção comercial e utilização de inimigos naturais. Há um amplo número de inimigos naturais atualmente disponível que oferece controle para várias espécies pragas (ALBAJES et al., 1999).

Dentre os inimigos naturais destacam-se os patógenos e entre eles os fungos. Os fungos entomopatogênicos são os organismos mais estudados e com grande potencial para o controle de pragas agrícolas. Cerca de 80% das doenças em insetos têm como agentes etiológicos os fungos, pertencentes à cerca de 90 gêneros e mais de 700 espécies, sendo que a maioria dos gêneros já foi relatada no Brasil. Os fungos são patógenos de amplo espectro, capazes de atacar diversas espécies de insetos e de causar epizootias naturais. São versáteis e podem infectar diferentes estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES, 1998).

O hospedeiro é geralmente invadido através da cutícula externa, entretanto, a colonização através do trato digestivo ocorre em algumas espécies. Os conídios atacam a cutícula, germinam e penetram dentro do tegumento por meio da combinação de

forças físicas e degradação enzimática da cutícula. O micélio então ramifica-se através da hemocele do hospedeiro e a sua morte é causada devido a uma combinação de esgotamento de nutrientes, invasão de órgãos e a ação de toxinas do fungo. As hifas geralmente emergem do cadáver e, em condições apropriadas, produzem conídios no exterior do hospedeiro, assim disseminando este inimigo natural (BUTT & GOETTEL, 2000). Portanto, o ciclo das relações fungo-hospedeiro é delimitado pelas seguintes fases: adesão, germinação, formação de apressórios, penetração, colonização e reprodução. As condições ambientais (temperatura, umidade, luz, radiação solar) favoráveis, bem como as condições nutricionais, a suscetibilidade do hospedeiro e a viabilidade dos propágulos é que vão garantir a eficiência desse processo.

A grande variabilidade genética dos fungos entomopatogênicos pode ser considerada uma das principais vantagens no controle microbiano de insetos. Com técnicas apropriadas, é possível selecionar isolados virulentos, específicos ou não, com características para a utilização nos programas de controle de pragas. Determinadas características, tais como esporulação e germinação rápida, permitem que o processo de infecção seja completado em poucas horas, com grande produção de conídios, os quais maximizam a dispersão dos patógenos (ALVES, 1998).

Os fungos, como agentes microbianos de controle, são de extrema importância e geralmente necessários para o controle de algumas pragas que apresentam alta capacidade reprodutiva e ciclo de vida reduzido (MILNER, 1997). Dentre os vários fungos com potencial para a utilização no controle microbiano destaca-se *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas, atualmente classificado como *Lecanicillium lecanii* (ZARE & GAMS, 2001).

Lecanicillium lecanii (Hyphomycete, Deuteromycotina) é um fungo oportunista o qual possui uma ampla gama de hospedeiros, incluindo insetos, ácaros, nematóides e fungos fitopatogênicos (HALL, 1981).

O fungo *L. lecanii* é um patógeno de artrópodos bem conhecido, sendo primeiramente descrito em 1861 parasitando a cochonilha *Saissetia coffeae* e coletado de um grande número de espécies de insetos e ácaros (GILLESPIE & CLAYDON, 1989). É capaz de causar grande mortalidade em pulgões sob condições naturais e em tripes, moscas-brancas e ácaros também vêm se mostrando patogênico (LOUREIRO, 2001). É patógeno da cochonilha

Coccus viridis Green e pode causar epizootias espetaculares em afídeos e cochonilhas em áreas tropicais e subtropicais (REIMER & BEARSDLEY, 1992).

Este entomopatógeno, que requer umidade relativa entre 85 e 90% por, pelo menos, 10 a 12 horas e necessita de temperaturas entre 15 a 25 °C para causar alta mortalidade (CLOID, 2005) já vem sendo usado comercialmente para o controle de tripes em plantas ornamentais sob cultivo protegido (VAN DER SCHAAF et al., 1990). Na Holanda, este fungo é formulado e produzido pela Koppert B.V. O produto Vertalec[®], na forma de blastosporos, é usado principalmente contra afídeos, já o produto comercial denominado Mycotal[®] contém conídios, é mais eficiente contra mosca-branca e tripes (NILSSON & GRIPWALL, 1999) e foi registrado em 1982, para o controle de mosca-branca nas culturas do pepino e tomate na Holanda (QUINLAN, 1988).

O primeiro produto introduzido para o controle de pulgões foi Vertalec[®], no ano de 1981, em cultivos de crisântemo sendo que, em 1988, foi desenvolvido como produto comercial. O melhoramento, tanto na produção quanto na formulação, resultou em um bioinseticida pó-molhável com uma dosagem de 10^{10} conídios viáveis/grama, com potencial 50 vezes maior quando comparado ao primeiro produto utilizado. Vertalec[®] foi utilizado em cultivos de pepino e tomate em casa-de-vegetação para o controle de espécies de mosca-branca. Foi verificado que o produto causou mortalidade média de 83% em ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* após duas pulverizações na cultura do pepino, e de 90% de mortalidade na cultura do tomate após três semanas da pulverização (VAN DER SCHAAF et al., 1990).

Baixas doses de Vertalec[®], aplicadas freqüentemente, têm se mostrado eficientes no controle dos pulgões das espécies *Mizus persicae* e *Aphis gossypii* em plantações de crisântemos, por isso *L. lecanii* tem sido muito estudado e apontado como sendo o melhor entomopatógeno para controlar várias espécies de pulgões (HELYER & WARDLOW, 1987). Os afídeos infectados servem como fonte adicional de inóculo, pois os conídios podem ser facilmente dispersos por todo o interior das estufas (CLOID, 2005).

Formulações desse entomopatógeno também vêm sendo estudadas, principalmente em relação à adição de óleos vegetais aos conídios de *L. lecanii*, podendo aumentar a atividade do patógeno em cultivos protegidos (HELYER et al., 1995).

2.2 *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

O ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) tem sido verificado em mais de 150 hospedeiros de valor econômico pelo mundo (JEPPSON et al., 1975) e é conhecido como “spider mite”, ou seja, ácaro que forma teia.

Essa espécie possui os ovos esféricos e de tonalidade amarelada, sendo a postura feita entre fios de teia que o ácaro tece na face inferior das folhas. Existe acentuado dimorfismo sexual, sendo as fêmeas ovaladas e os machos com a extremidade posterior do abdome mais estreita, aproximadamente 0,3 mm de comprimento. De modo geral, as fêmeas apresentam duas manchas verde-escuras no dorso, uma de cada lado.

O ácaro ataca a face inferior das folhas, onde forma teias para abrigar sua colônia; com isso deforma as folhas, além de se alimentar do líquido citoplasmático tornando-as cloróticas e acarretando desfolhamento da planta e falta de florescimento, provocando queda na produção (GALLO et al., 2002).

No Japão, esse ácaro tem sido encontrado causando a maioria dos danos em diversas produções, dentre elas as frutíferas, como pêra, pêssego e maçã. Além disso, os ácaros têm se tornado um dos grupos mais sérios de pragas da agricultura no agroecossistema deste país (TAKAFUJI et al., 2000).

Na Espanha, também tem sido relatado principalmente em plantios de morango, tornando-se um grande problema, pois a produção dessa fruta é muito importante neste país devido ao fato de ser um dos maiores produtores e exportadores da Europa com mais de 200.000 toneladas/ano (GARCÍA-MARÍ & GONZALÉZ-ZAMORA, 1999).

Além destes países, na Coreia também é uma praga importante em produções obtidas em estufa e árvores frutíferas (KIM & PAIK, 1996) e no Brasil tem causado prejuízos consideráveis às diversas culturas incluindo o morangueiro (SATO et al., 2002), plantas ornamentais (TAMAI, 2002) entre outras.

Esse ácaro está presente em viveiros de plantios de ornamentais, onde a qualidade das plantas produzidas é de suma importância e os danos por pragas são intoleráveis (SKIRVIN & WILLIAMS, 1999).

O ácaro rajado *T. urticae* vem sendo basicamente controlado por pulverizações de acaricidas, o que tem proporcionado problemas de resistência a esses

produtos (SKIRVIN & WILLIAMS, 1999) e cujo impacto ambiental pode ser bastante significativo (WATANABE et al., 1994).

O Japão não teve como evitar o uso de pesticidas para controlar as pragas da agricultura; entretanto esse uso freqüente resultou numa explosão populacional de *Tetranychus* spp., assim como tem sido relatado ao redor do mundo. Essa resistência desenvolvida pelos ácaros faz com que agricultores combinem os acaricidas recomendados a fim de prevenir múltiplas aplicações do acaricida isoladamente e, desse modo minimizar o desenvolvimento da resistência nas populações de ácaros (TAKAFUJI et al., 2000). O uso exacerbado desses produtos tem gerado, altos índices de resíduos e toxicidade em diversos alimentos. Por isso, suas aplicações em vegetais, frutas como o melão e alguns tipos de chás, têm sido limitadas e estritamente restritas para o controle de *Tetranychus cinnabarinus* na China (SHI & FENG, 2004).

A resistência apresentada pelos ácaros, devido ao uso de produtos químicos, combinada à pressão para a utilização de menores quantidades de pesticidas (SKIRVIN & WILLIAMS, 1999) e a grande preocupação com o resíduo desses produtos nos alimentos que serão adquiridos por consumidores (GARCIA-MARÍ & GONZÁLEZ-ZAMORA, 1999), faz aumentar a busca de controle dessa praga com alternativas menos impactantes.

Apesar do tamanho pequeno, esses ácaros podem ser facilmente criados em grandes quantidades, permitindo um estudo epizoótico detalhado (VAN DER GEEST et al., 2000). Várias pesquisas vêm sendo realizadas com a finalidade de encontrar maneiras estratégicas para supressão desse ácaro (KIM & YOO, 2002).

Uma das alternativas estudadas é o controle microbiano, e, vários autores já comprovaram a patogenicidade de fungos entomopatogênicos a este ácaro. Alves et al. (1998a) testaram um isolado de *Beauveria bassiana* em crisântemo na condição de campo experimental e os resultados obtidos foram melhores para o entomopatógeno do que para o produto químico utilizado no teste.

A patogenicidade de *B. bassiana* foi estudada por Tamai et al. (1999), a de *L. lecanii* por Wenzel et al. (2004) e a de *Lecanicillium muscarium* por Leite et al. (2004). Outros fungos como *Hirsutella thompsonii* e *Metarhizium anisopliae* também mostraram-se patogênicos a esse ácaro (TAMAI, 2002).

O controle biológico tem sido realizado principalmente com ácaros predadores como os da espécie *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae), mas há potencial de utilização de entomopatógenos. Os fungos entomopatogênicos, tais como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces fumosoroseus* são importantes agentes de biocontrole e têm sido formulados para utilização no sistema de Manejo Integrado de Pragas (SHI & FENG, 2004).

2.3 Nematóides Entomopatogênicos

Os gêneros *Steinernema* sp. e *Heterorhabditis* sp. passaram a ser estudados para o controle de insetos a partir de 1930, no entanto, o início da produção comercial se deu no final da década de 80 (LEITE et al., 2004a).

Até o momento, os três gêneros de nematóides entomopatogênicos mais conhecidos são: *Steinernema*, *Heterorhabditis* e *Neosteinernema*. Destes, os dois primeiros têm sido intensivamente estudados em todo o mundo e, desde a época de sua descoberta, estão sendo multiplicados para aplicação em casa de vegetação e no campo. Estes nematóides se caracterizam por vários aspectos favoráveis a seu uso na prática. Primeiro, por terem capacidade de se locomover no solo à procura do hospedeiro para os quais são atraídos por diferencial de CO₂ e, segundo, por terem uma extensa lista de hospedeiros, o que ajuda na sobrevivência em condições de campo (AGUILLERA, 2001).

Esses nematóides são parasitas obrigatórios pertencentes às famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae e matam os insetos com o auxílio de uma bactéria mutualística que carregam no intestino. As bactérias *Xenorhabdus* spp. e *Photorhabdus* spp. estão associadas com *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp., respectivamente (POINAR JR., 1990).

Os juvenis de terceiro estágio (infectivos) não se alimentam e carregam suas bactérias mutualísticas específicas nos seus intestinos. Os juvenis infectivos entram nos insetos hospedeiros através de aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e penetram na hemocele. Os juvenis infectivos de *Heterorhabditis* podem penetrar também diretamente pelo tegumento. Dentro da hemocele, os juvenis liberam células da bactéria que se propagam e matam o hospedeiro em 48 horas. Os nematóides se alimentam da bactéria e do

tecido do hospedeiro, se reproduzem em 2 a 3 gerações e emergem dos cadáveres como juvenis infectivos para a procura de novos hospedeiros. O ciclo de vida para a maioria dos steinernematídeos e heterorhabditídeos, da infecção à emergência dos juvenis infectivos, varia de 7 a 10 e 12 a 15 dias, respectivamente, em temperatura ambiente (EHLERS, 2001).

Os nematóides entomopatogênicos são efetivos no controle de uma variedade de pragas economicamente importantes. No Brasil, estão sendo estudados para controle de *Migdolus fryanus* em cana-de-açúcar, do bicho-furão (*Ectynolopha aurantiana*) em citros, do gorgulho-da-cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*), do moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*), entre outros (AGUILLERA, 2001, LEITE et al., 2004a).

Os nematóides dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* têm sido usados com sucesso na supressão de pragas de diversos cultivos incluindo citros, milho, ornamentais, gramados entre outros (NISHIMATSU & JACKSON, 1998).

Uma das pragas em que vem sendo feita a utilização do nematóide é a mosca do gênero *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae), também conhecida como “fungus gnats”, que é considerada como uma importante praga mundial. Está presente em cultivos de cogumelos e viveiros de mudas, atacando citros, fumo, ornamentais e diversas outras plantas de importância econômica. No Brasil, nos últimos anos, se tornou uma importante praga sendo disseminada de Norte a Sul. Estima-se que esta mosca esteja presente em mais de 15.000 estufas com mudas de plantas (LEITE et al., 2004a).

Na produção de ornamentais é uma das pragas mais importantes e pode causar sérios danos em violetas, crisântemos, ciclâmem, gerânios, poinsetias, lírios, entre outras. Plantas severamente injuriadas geralmente apresentam perdas na aparência e na coloração e, eventualmente, secam (JAGDALE et al., 2004).

Vários autores vêm estudando o controle biológico desta praga com nematóides entomopatogênicos, principalmente devido à resistência que apresenta a inseticidas químicos, mostrando a eficiência e viabilidade destes agentes (HARRIS et al., 1995, GOUGE & HAGUE, 1995; JAGDALE et al., 2004; BUSSOLA et al., 2004 e 2005).

A utilização combinada de nematóides e outros entomopatógenos poderia resultar em interações sinérgicas que possibilitariam aumentar o potencial para controle biológico (KOPPENHÖFER et al., 1999), entretanto, estas interações também podem

ser antagonistas, por isso há necessidade de estudá-las para saber se são compatíveis (BRINKMAN & GARDNER, 2000).

2.4 Patogenicidade de *Lecanicillium lecanii* a Insetos e Ácaros

A patogenicidade é a capacidade do microrganismo causar a doença no inseto, podendo este microrganismo ser patogênico ou não. Os fungos usualmente causam a mortalidade por deficiência nutricional, invasão e destruição dos tecidos e liberação de toxinas no hospedeiro (TANADA & KAYA, 1992). Avaliar a patogenicidade de fungos a insetos e ácaros é de extrema importância, pois permite que seja feita uma seleção de espécies e isolados que sejam mais adequados à praga-alvo, seu hábito e sua biologia. Os fungos entomopatogênicos parasitam espécies fitófagas que habitam a parte aérea de plantas e raízes, podendo causar epizootias naturais, infectando diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros como ovo, larva, pupa e adulto (ALVES & LECUONA, 1998). Entretanto, alguns fatores abióticos como temperatura e umidade relativa podem afetar a habilidade e velocidade com a qual os fungos podem infectar e colonizar o inseto hospedeiro (YEO et al., 2003).

Helyer et al. (1992) verificaram que para haver um controle efetivo da praga, o fungo *L. lecanii* requer condições ambientais adequadas como temperatura entre 15 e 25 °C e umidade relativa alta. Este entomopatógeno já foi estudado por vários autores que avaliaram sua patogenicidade a diferentes insetos praga como o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (WENZEL et al., 2004, GASSEN et al., 2005); moscas-brancas *Bemisia tabaci* (FARIA & WRAIGHT, 2001; LOURENÇÃO et al., 2001; WANG et al., 2004) e *Trialeurodes vaporariorum* (FARGUES et al., 2003); percevejo-de-renda da seringueira *Leptopharsa heveae* (TANZINI et al., 2002; RANGEL & CORREIA, 2003); pragas de grãos *Rhopalosiphum maidis*, *Sitobium avenae* e *Schizaphis graminum* (FENG et al., 1990); psílideo de concha do eucalipto *Glycaspis brimblecombei* (FAVARO et al., 2005); pulgão do *Pinus Cinara atlantica* (LOUREIRO et al., 2004); pulgões *Macrosiphoniella sanbornii* (CHANDLER et al., 1993); *Myzus persicae* (MILNER & LUTTON, 1986, FOURNIER & BRODEUR, 2000, LOUREIRO, 2001, YEO et al., 2003); sciarídeo (BUSSOLA et al., 2005a); tripes (HELYER et al., 1992).

2.5 Compatibilidade de Agrotóxicos a Fungos Entomopatogênicos

Aplicações regulares de um amplo espectro de agroquímicos, incluindo pesticidas, podem resultar na sua acumulação no meio ambiente e podem alterar componentes biológicos. A maioria dos inimigos naturais, dos quais depende o controle biológico das espécies pragas, tem se mostrado sensível aos produtos químicos (POPRAWSKI & MAJCHROWICZ, 1995).

Os patógenos de insetos têm um papel importante no manejo integrado de pragas, mas sua efetiva integração depende de sua compatibilidade com outros componentes do sistema, entre os quais os produtos químicos (JAQUES & MORRIS, 1981). Os fungos entomopatogênicos são inimigos naturais que podem ser diretamente prejudicados pelo uso de agrotóxicos, que tem sido a maneira básica de suprimir as populações de insetos considerados pragas (CAVALCANTI et al., 2002).

Existem diversas estratégias para a utilização de fungos entomopatogênicos, tais como introdução inoculativa, introdução inundativa, incrementação e conservação. A estratégia mais prática e econômica de utilização é aquela que se baseia na sua conservação dentro dos agroecossistemas; e pode ser obtida através da adoção de técnicas agronômicas simples e também pela utilização de defensivos agrícolas seletivos a esses fungos (ALVES et al., 1993).

A ação dos produtos fitossanitários sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das dosagens utilizadas (ALVES et al., 1998). Esses produtos podem causar inibição do crescimento vegetativo, da conidiogênese ou esporulação, além da viabilidade, patogenicidade e virulência do conídio (CAVALCANTI et al., 2002).

Os fungos estão entre os inimigos naturais que podem sofrer influência da aplicação de agrotóxicos, entretanto, a sua grande diversidade e intensa capacidade de multiplicação, oferecem uma ampla oportunidade para a seleção de linhagens resistentes (GHINI & KIMATI, 2000).

Em nível mundial, os produtos biológicos ocupam cada vez mais um lugar significativo na proteção de plantas, os quais permitem uma diminuição da incidência de

pragas em geral, assim como uma redução no emprego de produtos químicos (MUIÑO & LARRINAGA, 1998).

A expansão do Manejo Integrado de Pragas (MIP) tem sido constantemente incentivada pelos problemas de resistência em populações de pragas e doenças a agroquímicos e, recentemente, por políticas governamentais e exigências do mercado consumidor (VAN LENTEREN, 2000). A conservação de agentes de controle biológico dentro do agroecossistema é uma das estratégias adotadas para a utilização de entomopatógenos.

A aplicação combinada de micoinseticidas e agrotóxicos pode ser uma junção atraente, visto que o fungo e o inseticida químico podem atuar sinergisticamente permitindo o uso de concentrações menores de produtos químicos e a redução na possibilidade de evolução de resistência das pragas (BOMAN, 1980). As combinações podem ser vantajosas em alguns casos onde a ação isolada do microrganismo não é totalmente satisfatória (BENZ, 1971). A interação entre produtos fitossanitários e entomopatógenos deve ser considerada antes da recomendação do agente químico e representa uma importante ferramenta nos programas de MIP (BATISTA FILHO et al., 2001). A incompatibilidade dos produtos e o antagonismo aumentam de acordo com as doses do agente tóxico, e o sinergismo pode ser completamente ausente. Os fungicidas podem reduzir consideravelmente o crescimento e a germinação dos fungos entomopatogênicos, o que normalmente não acontece com os inseticidas (BENZ, 1971).

A suscetibilidade dos agentes microbianos a diferentes produtos químicos, em especial aos fitossanitários, vem sendo documentada há mais de 30 anos, quando foi observada a inibição de *Cephalosporium aphidicola* Match. utilizado no controle microbiano do afídeo do melão e algodão, *Aphis gossypii* (WILDING, 1972).

Alguns critérios podem ser usados para verificação da compatibilidade, como inibição do crescimento radial da colônia (OLMERT & KENNETH, 1974) ou germinação do conídio (CLARK et al., 1982; GARDNER & STOREY, 1985; STOREY & GARDNER, 1986).

Vários autores vêm realizando trabalhos sobre a compatibilidade de agrotóxicos e entomopatógenos em laboratório: Alves et al., 1993, Poprawski e Majchrowicz, 1995, Muiño e Larrinaga, 1998, Batista Filho et al., 2001, Neves et al, 2001, Cavalcanti et al.,

2002, Loureiro et al., 2002, Tamai et al., 2002, Almeida et al., 2003, Batista Filho et al., 2003, Cavalcanti et al., 2004, Duran et al., 2004, Cintra, 2004, Er e Gökçe, 2004.

Já os estudos de compatibilidade em condições de estufa são escassos, entretanto de extrema importância, pois o ambiente da estufa pode contribuir para o aproveitamento dos fungos como bioinseticidas pois certos fatores como temperatura e umidade, que são favoráveis, podem ser manipulados para o início e manutenção de epizootias. Desta forma, para que possam ser utilizados, há necessidade que sejam compatíveis com outros produtos de origem química, pois as principais doenças foliares do crisântemo são controladas com aplicações de fungicidas (GARDNER et al., 1984).

2.6 Ácaros Predadores e Seletividade de Fungos Entomopatogênicos a Inimigos Naturais

Os predadores são fundamentais para que ocorra o equilíbrio na natureza; esses necessitam de mais de um indivíduo (presa) para o seu completo desenvolvimento, alimentando-se de várias espécies de insetos e ácaros. Além dos patógenos, os insetos predadores são importantes por serem eficientes em uma ampla diversidade de presas, tais como pulgões, moscas-brancas, cochonilhas, lagartas, ácaros, etc (CARDOSO, 2004).

Os ácaros predadores são efetivos na manutenção de baixos níveis de ácaros fitófagos em muitos cultivos e plantas nativas (MORRIS et al., 1999). Os fitoseídeos são predadores de movimentos rápidos, fototrópicos negativos que buscam ativamente suas presas. Apresentam coloração geralmente palha, ocasionalmente marrom ou avermelhada e quelíceras em forma de pinça. Ácaros da família Tetranychidae, geralmente, são presas bastante favoráveis a predadores da família Phytoseiidae, e correspondem ao grupo de ácaros fitófagos mais estudados em relação ao controle biológico (MORAES & MC MURTRY, 1986).

O uso de inimigos naturais para o controle de ácaros-praga é hoje uma realidade em diversos países. Mc Murtry (1991) e Moraes (1991) listaram vários projetos de controle biológico bem sucedidos no mundo e em andamento no Brasil, destacando o controle

do ácaro vermelho europeu nos Estados Unidos, do ácaro rajado em pepino em casas-de-vegetação na Europa e em ornamentais no Brasil, assim como o ácaro verde da mandioca na África.

A espécie *Phytoseiulus persimilis* correspondeu ao primeiro exemplo, de um caso bem sucedido, de liberações periódicas de um ácaro predador para controle de um ácaro-praga. No Brasil, a liberação de *Neoseiulus idaeus* e *Phytoseiulus macropilis*, no início da fase de infestação da praga, conseguiu reduzir significativamente a população do ácaro rajado em condições experimentais em morangueiros no Município de Jaguariúna - SP. (WATANABE et al., 1994).

A espécie *Neoseiulus californicus* (Mc Gregor) (Acari: Phytoseiidae) é de ampla distribuição geográfica (MORAES et al., 1986) e foi introduzida em pomares de macieira no Sul do Brasil em 1992 visando reduzir as populações das espécies *Panonychus ulmi* e *T. urticae*. O potencial de controle dessas espécies fitófagas por *N. californicus* foi demonstrado nos Estados Unidos e em alguns países da Europa. No Brasil, esse ácaro já está sendo liberado em plantios de ornamentais na região de Holambra - SP.

Outra espécie com potencial para ser utilizada é *Neoseiulus barkeri* (Hughes) (Acari: Phytoseiidae) que tem sido empregada com sucesso para o controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* em vários tipos de cultivos protegidos. Além disso, o ácaro *N. barkeri* é um bom controlador de algumas espécies de tripes, como *Frankliniella occidentalis*, que constitui uma praga importante no cultivo de plantas ornamentais (FAN & PETITT, 1994).

Esses ácaros predadores usam grande variedade de estímulos para localizar suas presas, entre os quais destacam-se estímulos olfativos por elas emitidos (caïromônios), assim como aqueles liberados pelas plantas hospedeiras (sinomônios) (COLLIER et al., 2000).

O uso de entomopatógenos e outros inimigos naturais (parasitóides, predadores, nematóides) como agentes alternativos de controle de pragas vem aumentando rapidamente em cultivos protegidos. Os agentes de controle freqüentemente são introduzidos simultaneamente ou com muita proximidade uns dos outros, principalmente para o controle de pragas que têm altas taxas de reprodução e um controle difícil se for usado apenas um agente de controle biológico (GULLINO et al., 1999). Entretanto, esses agentes podem atuar de

maneira sinérgica, aditiva ou antagonista. Interações sinérgicas entre patógenos e outros inimigos naturais aumentam a eficácia de controle, entretanto interações antagonistas podem reduzir totalmente a eficácia (ROY & PELL, 2000).

Nos últimos anos vem crescendo a exigência para a avaliação toxicológica do efeito dos pesticidas sobre a fauna benéfica, no entanto, pouco se tem feito em relação à ação desses produtos em insetos (IZQUIERDO & FORTUNY, 1997). Pelo fato de, em geral, os biopesticidas serem menos nocivos ao ambiente, muitas vezes minimiza-se sua possível influência sobre os insetos úteis e por isso os estudos toxicológicos não são realizados (VAZQUEZ, 2002).

Os entomopatógenos podem influenciar nas populações de parasitóides e predadores, mas, geralmente, muito menos do que os impactos provocados pelos inseticidas químicos nessas populações (JAQUES & MORRIS, 1981). Alguns entomopatógenos podem prejudicar os parasitóides das seguintes maneiras: infecção do parasitóide, produção de fatores tóxicos, ou até mesmo pela morte do hospedeiro antes que o parasitóide complete seu desenvolvimento. Porém, em algumas relações entre patógenos e parasitóides, existem aspectos benéficos que contribuem aumentando o controle do inseto-praga (CROFT, 1990; GOETTEL et al., 1990; BROOKS, 1993 citados por LOUREIRO 2001).

Os predadores podem interagir com os patógenos após serem atingidos diretamente durante as aplicações, quando entram em contato com plantas contaminadas ou quando se alimentam de insetos já infectados; ainda podem servir como agentes disseminadores de patógenos. A atuação deletéria dos entomopatógenos sobre os predadores pode ocorrer através da inviabilização dos ovos, larvas e adultos, alteração do ciclo do inseto, dificuldade no encontro da presa e alimentação (MAGALHÃES et al., 1998).

A realização de estudos de impacto ambiental que permitam determinar o efeito de entomopatógenos sobre essas populações de inimigos naturais deve ser considerada, pois o uso de entomopatógenos deve permitir a ação natural destes insetos (PACHON & COTES, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Fungo Utilizado

O isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* é proveniente do Laboratório de Ecologia de Microrganismos, da FCAV/UNESP, Jaboticabal/SP, e foi obtido da cochonilha verde *Coccus viridis* Green (Hemiptera: Coccidae). Após a reclassificação recente realizada por Zare e Gams (2001), o isolado foi remetido ao Dr. Richard A. Humber (USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Plant Protection Research Unit, US Plant, Soil & Nutrition Laboratory, Ithaca, NY) para a confirmação da espécie. O fungo, conservado em óleo mineral, foi multiplicado através de repicagens em placas de Petri com BDA, incubadas durante 12 dias a $25,5 \pm 0,5$ °C em B.O.D., para obtenção de culturas jovens para a utilização nos ensaios.

3.2 Efeito de Diferentes Concentrações de *Lecanicillium lecanii* a *Tetranychus urticae*

Para o teste de patogenicidade foi utilizado o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) proveniente da criação, em folhas de feijão-de-porco

(*Canavalia ensiformis*), localizada no Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico - Campinas/SP.

Foram avaliadas as suspensões de conídios, obtidos do cultivo do fungo produzido em arroz, padronizadas em 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL. O volume de 1 mL das suspensões foi pulverizado através da Torre de Potter adaptada (Figura 1a) nas arenas com folhas de feijão-de-porco e algodão umedecido servindo como barreira para evitar a fuga dos ácaros (Figura 1b). A testemunha absoluta foi pulverizada apenas com água destilada.

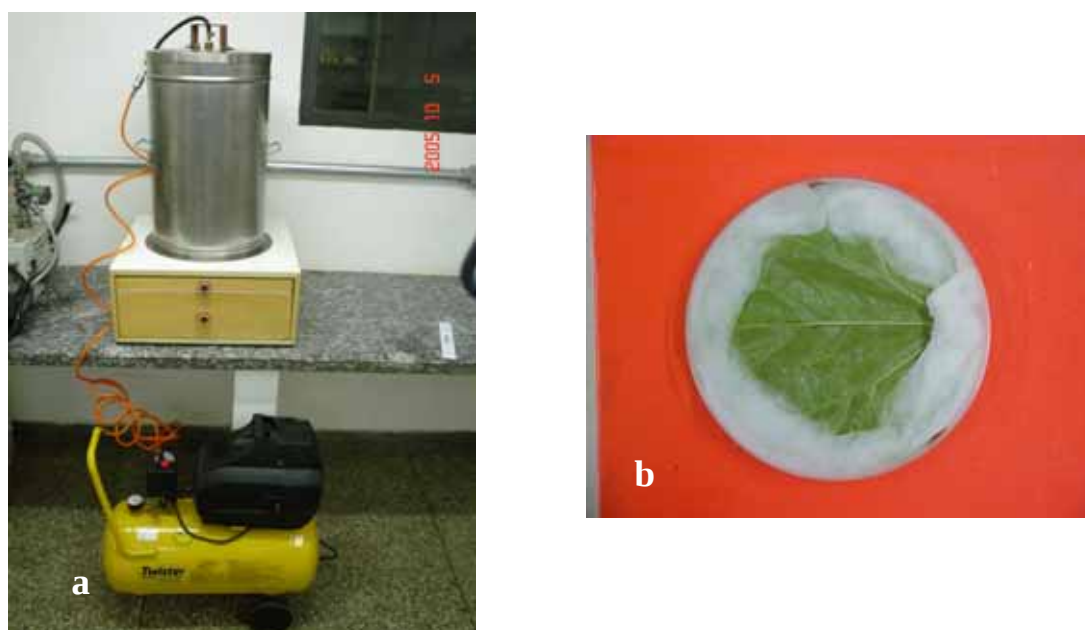


Figura 1. a) Torre de Potter adaptada e b) arena para pulverização de suspensões fúngicas e acondicionamento dos ácaros.

Após breve secagem da suspensão foram colocados 15 ácaros em cada folha. As placas foram tampadas, vedadas com filme plástico e acondicionadas em B.O.D. a $25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas. As avaliações da mortalidade dos ácaros foram realizadas, com auxílio de um microscópio estereoscópio, diariamente até o 10º dia após a pulverização. Os ácaros mortos foram transferidos para câmaras úmidas (placas de Petri com

algodão umedecido e vedadas com filme plástico) para que fosse confirmada a morte pelo entomopatógeno.

A concentração letal (CL₅₀) e os tempos letais (TL₅₀) foram determinados através da Análise de Probit.

3.3 Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* a Agrotóxicos em Condições de Laboratório e Estufa

Os ensaios de compatibilidade em laboratório e em estufa foram realizados em etapas devido à quantidade de produtos a serem testados, ao número de repetições e para um melhor andamento das avaliações.

3.3.1 Em Laboratório

Foram avaliados 20 agrotóxicos, dentre eles, os recomendados (COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, 1999) e utilizados no controle de pragas e doenças na cultura do crisântemo (Tabela 1).

Para avaliação da compatibilidade, o fungo *L. lecanii* foi repicado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-água) contendo os agrotóxicos na dosagem recomendada pelo fabricante. O meio de cultura foi autoclavado a 1 atm (121 °C) por 20 minutos e, antes da solidificação, a uma temperatura de aproximadamente 45 °C, foram acrescentados os produtos. Em seguida, a mistura foi vertida em placas de Petri de 9 cm de diâmetro e a testemunha foi representada pelo meio de cultura específico sem produto. Após a solidificação do meio, o fungo foi transferido através de três pontos nas placas, com auxílio de uma alça de platina. As placas repicadas foram mantidas em câmara de germinação (B.O.D.) durante 16 dias à temperatura de 25,5 ± 0,5 °C e fotofase de 12 horas. Para avaliação do crescimento vegetativo foram medidos dois diâmetros da colônia com régua comum. Em seguida, essas colônias foram recortadas com estilete flambado e colocadas em tubos de ensaio com 10 mL de uma suspensão autoclavada de água destilada e espalhante adesivo

(Tween 80[®]) a 0,1%. Essa suspensão foi agitada em agitador elétrico de tubos, para extração e posterior contagem dos conídios em câmara de Neubauer.

Para o teste de viabilidade, em placas de Petri de plástico foi colocada uma fina camada de BDA com pentabiótico (0,5 g/L). Após a solidificação do meio, cada placa recebeu 0,1 mL das suspensões fúngicas, preparadas para a contagem de conídios. As suspensões foram espalhadas com auxílio de uma alça de Drigalsky, flambada e devidamente resfriada.

Posteriormente, essas placas foram mantidas por 15 horas em B.O.D. a $25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas. Após esse tempo, as placas foram observadas em microscópio com aumento de 400 vezes para a contagem de 100 conídios, germinados e não germinados, estabelecendo-se uma proporção.

Cada tratamento foi avaliado através de seis repetições tanto para o crescimento radial, quanto para a esporulação e a viabilidade.

O cálculo do fator de compatibilidade dos produtos fitossanitários foi feito através da fórmula proposta por Alves et al. (1998),

$$T = 20 (CV) + 80 (ESP)/100, \text{ onde:}$$

T: valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para a classificação do produto;

CV: porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha;

ESP: porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

Os valores de T foram comparados com os limites estabelecidos de: 0-30= muito tóxico; 31-45= tóxico; 46-60= moderadamente tóxico e > 60= compatível.

Tabela 1 - Agrotóxicos recomendados e utilizados para controle de pragas e doenças da cultura do crisântemo.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Dosagens recomendadas
Fungicidas		
Alto 100 GR	cyproconazole	10 a 15mL/100L água
Antracol 700 PM	propineb	3,0 kg/ha
Cercobin 700 PM	tiofanato metílico	70 g/100L água
Cuprozeb	mancozeb + oxicloreto de cobre	200 g/100 L água
Dithane PM	mancozeb	200 g/ha
Folicur 200 CE	tebuconazole	1,0 L/ha
Rovral SC	iprodione	100 mL/100 L água
Stratego 250 EC	propiconazole + trifloxistrobina	400 mL/100 L água
Inseticidas		
Actara 250 WG	thiametoxam	400 g/ha
Azodrin CE	monocrotofós	100mL/100L água
Confidor 700 Grda	imidacloprid	100 a 360 g/ha
Dicarzol 500 OS	hidrocloreto de formetanato	150g/100L água
Lannate BR	metomil	100 mL/100 L água
Mesuroi 500 SC	metiocarbe	150 mL/100 L água
Orthene 750 BR	acefato	100g/100L água
Provado 200 SC	imidacloprid	100 mL/100 L água
Thiodan CE	endosulfan	1,0 a 1,5 L/ha
Trigard 700 PM	ciromazina	15g/100 L água
Acaricidas		
Omite 720 CE BR	propargite	30 mL/100L água
Vertimec 18 CE	abamectina	25 a 50 mL/100 L água

3.3.2 Em Estufa

O ensaio foi realizado na estufa do Laboratório de Controle Biológico, em condições de temperatura em torno de 27°C e umidade relativa ao redor de 70%, e foram aplicados os tratamentos com os produtos classificados, no experimento anterior (3.3.1), como incompatíveis ao fungo. Esses produtos foram misturados, proporcionalmente, às suas dosagens recomendadas, em 150 mL de água destilada e foram inicialmente pulverizados em seis vasos de crisântemo da variedade White Mega Time.

Em seguida, a mesma quantidade de suspensão padronizada (1×10^7 con./mL) de JAB 02 foi pulverizada nos mesmos vasos. A testemunha recebeu apenas a suspensão fúngica. Às 0, 24, 48 e 72 horas após a pulverização foram retiradas aleatoriamente quatro folhas de cada um dos seis vasos e foi feita uma lavagem com 150 mL de água destilada esterilizada. Desta suspensão, 0,1 mL foi transferido e distribuído com alça de Drigalsky em placas de Petri contendo BDA e pentabiótico (0,5 g/L). As placas foram incubadas em B.O.D. a $25,5 \pm 0,5$ °C fotofase de 12 horas durante 7 dias. Após esse período foram contadas as colônias de *L. lecanii* formadas nas placas.

3.4 Patogenicidade de *Lecanicillium lecanii*, Cultivado em Meio de Cultura contendo Inseticidas e Acaricidas, ao Ácaro Rajado *Tetranychus urticae*

As suspensões do fungo, obtidas no ensaio de compatibilidade em laboratório, com os inseticidas e acaricidas, preparadas anteriormente para a contagem e viabilidade dos conídios (3.3.1) foram padronizadas em 1×10^7 conídios/mL. O número de ácaros utilizados, a quantidade pulverizada, o acondicionamento dos ácaros em placas de Petri e a confirmação da mortalidade foram os mesmos descritos no item 3.2. As avaliações da mortalidade ocorreram aos 2, 4 e 6 dias.

3.5 Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* a Nematóides Entomopatogênicos

Os ensaios de compatibilidade de nematóides seguiram a metodologia do protocolo de Vainio (1992), com algumas modificações.

3.5.1 Teste de Viabilidade

Foram preparadas suspensões padronizadas nas concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 conídios de *L. lecanii*/mL com viabilidade de 94% e a suspensão dos nematóides entomopatogênicos, *Steinernema* sp. (CB n6) e *Heterorhabditis indica* (CB n5), procedentes da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” (Instituto Biológico) que foram multiplicados, para os ensaios, através da inoculação de lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Os nematóides foram contados em lâmina de Peters, para que fosse feito o cálculo da quantidade necessária de nematóides a ser filtrada para utilização na mistura com as suspensões do fungo. Em cada placa de Petri, contendo 20 mL de suspensão, foi colocado o papel de filtro contendo os 500 nematóides obtidos através da filtração em bomba de vácuo. A testemunha foi composta por água destilada e somente os nematóides filtrados. Após 4, 8, 12 e 24 horas as placas foram levadas para um microscópio estereoscópio onde foram contados 100 nematóides, entre vivos e mortos, estabelecendo-se uma proporção.

3.5.2 Teste de Infectividade

Os 5.000 nematóides, quantificados através da lâmina de Peters, foram misturados, em erlenmeyers de 250 mL, às suspensões padronizadas de *L. lecanii* nas mesmas concentrações anteriores e permaneceram em “shaker” durante o período de 4, 8, 12 e 24 horas na rotação de 200 rpm. Após cada tempo o material foi retirado e, para cada placa de Petri, foram filtrados em papel filtro, com auxílio de bomba de vácuo, 10 mL das suspensões, suficientes para a obtenção de 500 nematóides/placa. Após ser colocado na placa, esse papel de filtro recebeu 1 mL de água destilada e, posteriormente, 3 lagartas da traça dos favos

Galleria mellonella. A testemunha foi representada apenas pela suspensão dos nematóides em água destilada.

A avaliação da mortalidade das lagartas foi acompanhada diariamente e as lagartas mortas foram colocadas em armadilha de White para confirmar a mortalidade pela ação dos nematóides. Esta armadilha foi montada com uma placa de Petri contendo solução de formol 1%, uma tampinha plástica e um pedaço de papel filtro (Figura 2).



Figura 2. Armadilha de White.

3.6 Seletividade de *Lecanicillium lecanii* a Ácaros Predadores

As espécies de ácaros predadores, *Neoseiulus barkeri* (Hughes) e *N. californicus* (Mc Gregor) (Acari: Phytoseiidae), foram provenientes da criação mantida no Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia da ESALQ/USP, Piracicaba/SP.

As concentrações padronizadas de 5×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 conídios/mL de *L. lecanii* foram pulverizadas conforme descrito em 3.2. Após a pulverização das suspensões e breve secagem das folhas, foram colocados os ácaros rajados e posteriormente os ácaros predadores.

As placas foram mantidas em B.O.D. a $25,5 \pm 0,5$ °C e a mortalidade dos predadores avaliada a cada 2 dias durante 8 dias. Foram feitas 6 repetições e cada arena foi

composta por 5 ácaros predadores, totalizando 30 ácaros/tratamento. Os ácaros rajados foram colocados à vontade e repostos conforme a necessidade.

3.7 Análise Estatística

O delineamento experimental de todos os ensaios foi inteiramente casualizado (DIC) com 6 repetições e a análise foi realizada através do programa ESTAT 2.0. Os dados foram submetidos a Análise de Variância e, na significância desta, foi feito o teste de Tukey a 5% para a comparação entre as médias.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito de Diferentes Concentrações de *Lecanicillium lecanii* a *Tetranychus urticae*

O fungo, em todas as concentrações, foi patogênico ao ácaro rajado e as maiores concentrações proporcionaram as maiores mortalidades no período final de avaliação (Figura 3). Do 6º para o 7º dia, houve um aumento na mortalidade de 43% a 62%, na concentração de 5×10^8 con./mL, ou seja, 19% de aumento, enquanto para as demais concentrações os aumentos de mortalidade ficaram entre 7 e 10%, no mesmo período.

No décimo dia de avaliação, as porcentagens de mortalidades variaram entre 49 e 90%. A concentração de 5×10^8 con./mL proporcionou a maior mortalidade e 5×10^6 causou a mortalidade menor (Figura 3).

As mortalidades não confirmadas ou devido a outras causas não passaram de 10% e podem ser explicadas pela possível entrada e estabelecimento de outros microrganismos no cadáver do ácaro antes do desenvolvimento e da colonização pelo fungo entomopatogênico (ALVES et al., 2002).

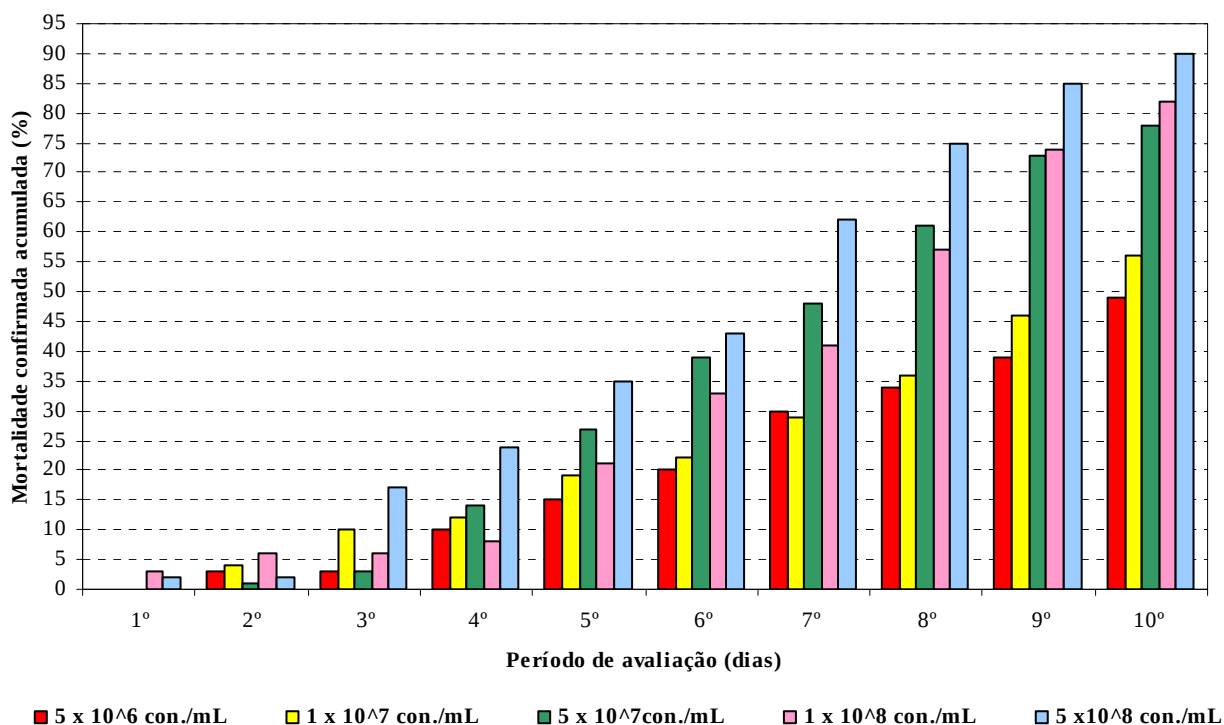


Figura 3. Mortalidade confirmada de *Tetranychus urticae* pulverizado com suspensões contendo diversas concentrações de conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* (T=25,5 ± 0,5 °C e Fotofase= 12 horas).

Alguns ácaros apresentaram sintomas de infecção pelo patógeno como tremores nas pernas e capacidade reduzida de locomoção. Outros, ainda vivos, apresentaram sinais de infecção pelo isolado JAB 02. Os cadáveres que apresentaram aspecto algodinoso, decorrentes do crescimento micelial e colonização pelo patógeno, foram considerados como mortalidade confirmada (Figura 4). Esta confirmação da mortalidade comprova a capacidade do entomopatógeno completar seu ciclo no interior do hospedeiro (TAKADA, 2002).

Outros ácaros apresentaram aspecto de podridão e não foi verificada a esporulação do fungo em estudo, sendo considerados como mortalidade não confirmada ou mortalidade devido a outras causas.

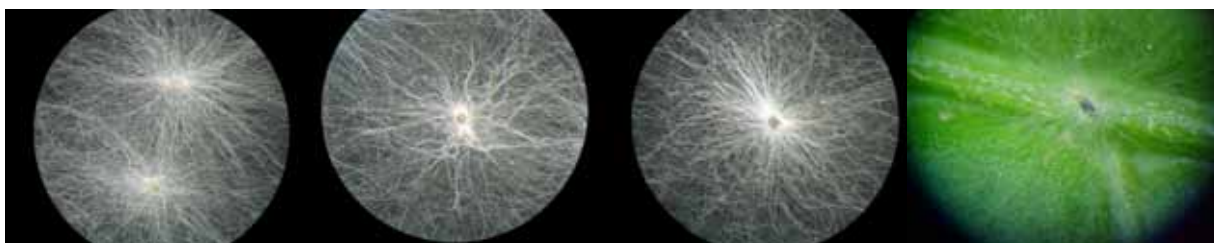


Figura 4. Confirmação da mortalidade de *Tetranychus urticae* após pulverização de diferentes concentrações do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*.

A concentração letal suficiente para matar 50% da população (CL_{50}) foi de $5,25 \times 10^6$ con./mL no final dos dez dias de avaliação (Figura 5) e o menor tempo letal (TL_{50}) foi de 5,73 dias obtido na maior concentração (5×10^8 con./mL) (Tabela 2).

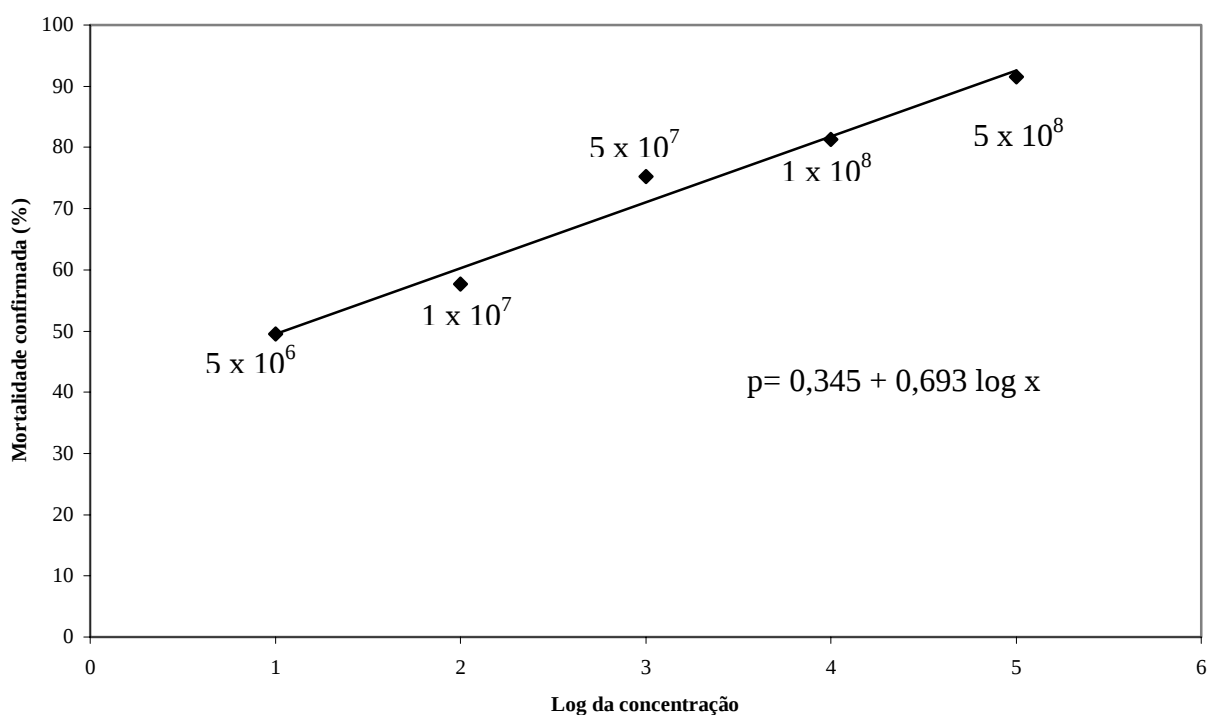


Figura 5. Mortalidade de *Tetranychus urticae* dez dias após a aplicação do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, nas concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL à $T=25,5$ °C, fotofase =12 horas e UR em torno de 70%.

Tabela 2. Tempos letais medianos (TL₅₀) em dias, Intervalos de Confiança (I. C.) e equação de regressão linear obtidos pela análise Probit para a mortalidade de *Tetranychus urticae* pelo isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*.

Concentração (conídios/mL)	TL ₅₀	I.C.	Equação
5 x 10 ⁶	10,84	(9,73; 12,58)	y = 1,906 + 2,988.logx
1 x 10 ⁷	10,25	(9,20; 11,89)	y = 2,280 + 2,691.logx
5 x 10 ⁷	6,89	(6,57; 7,24)	y = 1,034 + 4,731.logx
1 x 10 ⁸	7,12	(6,12; 8,65)	y = 1,372 + 4,254.logx
5 x 10 ⁸	5,73	(5,45; 6,02)	y = 1,631 + 4,440.logx

A concentração letal aplicada no campo contra o hospedeiro poderá afetar seu grau de controle. É importante aplicar a concentração requerida do patógeno, de maneira adequada e no tempo certo, para obter um bom controle da praga (TANADA & KAYA, 1992).

Loureiro (2001) avaliou a patogenicidade de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* e do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* sobre ninfas de terceiro ínstar dos pulgões *Aphis gossypii* e *Myzus persicae*. Foram aplicadas as concentrações de 1 x 10⁶, 0,5 x 10⁷, 1 x 10⁷, 0,5 x 10⁸ e 1 x 10⁸ con./mL. Os tempos letais diminuíram à medida que foram aumentando as concentrações, entretanto, foram encontrados tempos letais mais longos em concentrações maiores para os quatro fungos entomopatogênicos avaliados. Para *A. gossypii*, a dosagem de 0,5 x 10⁸ de *L. lecanii* foi mais eficiente, com tempo letal (TL₅₀) de 2,59, seguido de 1 x 10⁸ com TL₅₀ de 2,81 dias. Após oito dias de infecção, foram observadas mortalidades em torno de 100% em todas as concentrações. Já para *M. persicae*, o fungo *L. lecanii* foi o mais lento com TL₅₀ de 3,26 dias para 1 x 10⁸ con./mL. Verificou-se que o tempo letal para os afídeos tratados com JAB 02 foi bem menor do que o encontrado para o ácaro rajado. Essa diferença nos tempos letais evidencia a desigualdade de virulência do patógeno nas diferentes espécies que ele pode controlar.

A ação lenta do fungo pode estar ligada ao modo de aplicação ou, ainda pode ser uma suscetibilidade da população em função da época da coleta, condição

fisiológica, ou de reações específicas do fungo nos processos de penetração, colonização, ação de toxinas e mecanismos de defesa do inseto (BATISTA FILHO et al., 1995).

Tamai et al. (1999) pulverizaram concentrações de 5×10^6 a 1×10^9 con./mL para avaliar a patogenicidade do isolado 447 de *B. bassiana* obtido de *Solenopsis invicta* sobre *T. urticae*. Foi verificada uma baixa virulência para todos os tratamentos, mesmo nas concentrações mais elevadas, até o 6º dia de avaliação. As mortalidades confirmadas variaram, da menor à maior concentração, entre 1,7 e 28,3%, respectivamente. Os autores utilizaram um método diferente. Nesse caso, as folhas de feijão-de-porco é que foram imersas por 30 segundos em 10 mL da suspensão fúngica e depois da secagem da folha é que os ácaros foram colocados.

Com objetivo de selecionar isolados de *B. bassiana* patogênicos a *T. urticae*, Tamai (2002) verificou que alguns isolados proporcionaram mortalidades confirmadas superiores a 80% entre o 3º e 5º dia evidenciando neste caso a ação rápida do patógeno. A inoculação dos ácaros foi realizada através da pulverização de 2 mL das suspensões diretamente sobre eles nas folhas de feijão.

Rangel e Correia (2003) avaliaram a virulência de isolados de *Aphanocladium album* e *Lecanicillium lecanii* em ninfas (de terceiro e quinto ínstar) e adultos do percevejo-de-renda da seringueira *Leptopharsa heveae* testando duas concentrações: $2,4 \times 10^5$ e $2,4 \times 10^7$ con./mL. Foi verificada baixa mortalidade na concentração de $2,4 \times 10^5$ con./mL com apenas um isolado matando 50% das ninfas de terceiro ínstar. Já para os adultos, o isolado ARSEF 6431 de *L. lecanii* foi o mais virulento apresentando TL_{50} de apenas 2 dias. Este isolado causou mortalidade de 85% em 12 dias.

Arzone e Marletto (1984) constataram mortalidade de 60% em adultos do percevejo-de-renda do Plátano, *Corythucha ciliata*, por *L. lecanii* no 12º dia em concentrações entre $2,5$ a $3,0 \times 10^7$ con./mL.

Shi & Feng (2004) avaliaram o efeito letal dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus* sobre os ovos do ácaro *T. cinnabarinus*. Apesar da variação na infectividade para os dez isolados testados, as três espécies de fungos foram capazes de inviabilizar os ovos deste ácaro.

Diante disto, fica evidente que a virulência de um fungo depende do inseto praga, pois a maneira e a agressividade como este entomopatógeno atua é muito variável entre as diferentes espécies de artrópodes.

4.2 Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* a Agrotóxicos em Condições de Laboratório e Estufa

4.2.1 Em Laboratório

Através da análise estatística pode ser observada diferença entre as testemunhas e todos os fungicidas avaliados em relação ao crescimento vegetativo e reprodutivo, mostrando que os produtos influenciaram tanto no crescimento da colônia quanto na produção dos conídios (Tabela 3).

Os produtos Dithane, Folicur, Antracol, Cercobin e Stratego suprimiram o crescimento e a esporulação do isolado. Nas testemunhas obteve-se valores maiores e estatisticamente diferentes dos tratamentos em que os fungicidas foram adicionados ao meio de cultura (Tabela 3).

Em relação à viabilidade dos conídios produzidos, a testemunha não diferiu estatisticamente dos tratamentos Cuprozeb, Alto 100 (dosagem máxima) e Rovral e verificou-se que, apesar da influência dos fungicidas no crescimento das colônias e também na esporulação do fungo, os conídios produzidos não tiveram sua capacidade de germinação afetada (Tabela 3).

Esta elevada germinação dos conídios produzidos na presença de alguns produtos pode ter ocorrido devido à degradação e metabolização dos princípios tóxicos das moléculas químicas pelo fungo (ALVES et al., 1998).

Resultado semelhante foi encontrado por Loureiro et al. (2002) para este mesmo isolado e os fungicidas Folicur, Dithane e Cercobin em relação ao crescimento e esporulação.

Tabela 3 - Médias do crescimento, esporulação e viabilidade de conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* submetido a diferentes fungicidas após 16 dias de incubação à $T=25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10 ⁷ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,47 a	1,78 a	95,0 a
Cuprozeb	1,83 b	0,21 b	91,0 a
Dithane	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Folicur	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Teste F	31464,51**	465,24**	1679,83**
C.V. (%)	1,85	19,62	6,90
Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10 ⁷ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,72 a	0,95 a	96,0 a
Alto 100 máx.	1,46 b	0,22 b	95,8 a
Antracol	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Cercobin	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Stratego	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Teste F	6845,45**	485,63**	5251,60**
C.V. (%)	4,90	19,52	4,63
Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10 ⁷ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,28 a	2,47 a	99,6 a
Alto 100 mín.	1,49 c	0,15 c	96,0 b
Rovral	3,49 b	0,56 b	100 a
Teste F	3240,04**	107,95**	7,47**
C.V. (%)	2,00	27,51	2,02

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

C.V.= Coeficiente de Variação

Cintra (2004) verificou que o produto Folicur também foi responsável pelo não crescimento do isolado IBCB 425 de *Metarhizium anisopliae*, já no tratamento com o fungicida Alto 100 o desenvolvimento também não foi observado. Resultado semelhante foi obtido por Trama et al. (2001) para *L. lecanii*. O crescimento e a esporulação não foram observados no tratamento com o produto em que uma das moléculas é o cyproconazole, mostrando a influência negativa do fungicida. Esses resultados discordam dos obtidos, pois, para JAB 02 houve um pequeno crescimento e pouca esporulação (Tabela 3).

A compatibilidade dos fungicidas Antracol e Dithane, em três dosagens diferentes, foi estudada por Durán et al. (2004) para o fungo *B. bassiana* cepa 447. Eles também observaram que estes produtos não proporcionaram crescimento desta cepa sendo esses fungicidas, os que causaram os efeitos mais letais entre os produtos avaliados.

O crescimento radial do fungo, cultivado em meio com os produtos Orthene, Vertimec na dose mínima e Lannate, não apresentou diferença estatística em relação às suas respectivas testemunhas. Já com o produto Provado observou-se crescimento radial maior que na testemunha diferindo estatisticamente. O único produto testado em que não se observou crescimento do fungo foi Thiodan na dosagem máxima (Tabela 4).

A produção de conídios, pelo fungo na testemunha diferiu estatisticamente da ocorrida nos tratamentos contendo os inseticidas Confidor nas dosagens máxima e mínima e Orthene e também diferiu das dosagens máxima e mínima de Thiodan e de Trigard, ou seja, a exposição do fungo a esses produtos causou uma redução na esporulação (Tabela 4).

Já os produtos Actara, Dicarzol, Mesurol, Azodrin, Lannate, Omite, Provado e Vertimec nas duas dosagens utilizadas foram estatisticamente semelhantes às respectivas testemunhas (Tabela 4). A presença destes produtos no meio de cultura não afetou a esporulação do fungo.

Quanto à viabilidade, pode ser observado que os conídios não foram afetados pelos produtos químicos quando produzidos nos meios de cultura com esses compostos, apresentando valores de viabilidade superiores a 92%, com exceção do produto Thiodan na dosagem máxima que não produziu conídios (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias do crescimento, esporulação e viabilidade de conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* submetido a inseticidas e acaricidas após 16 dias de incubação à T=25,5 ± 0,5 °C e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10 ⁷ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,77 a	2,33 a	97,5 a
Confidor máx.	4,33 c	1,44 b	98,7 a
Confidor mín.	4,48 b c	1,23 b	99,1 a
Orthene	4,62 a b	1,56 b	98,3 a
Teste F	20,90**	9,61**	1,00 ^{n.s.}
C.V. (%)	2,22	23,09	1,75
Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10 ⁷ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,30 a	2,64 a b	99,6 a
Thiodan máx.	0,00 d	0,00 c	0,00 b
Thiodan mín.	1,85 c	0,24 c	100 a
Vertimec máx.	4,01 b	3,00 a	99,3 a
Vertimec mín.	4,29 a	2,24 b	99,3 a
Teste F	1761,52**	117,59**	29801,17**
C.V. (%)	3,86	19,46	0,79
Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10 ⁷ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,47 a	1,78 a	94,6 b c
Actara	4,15 b	1,96 a	92,6 c
Dicarzol	4,02 c	1,44 a	98,0 a b
Mesurol	3,42 d	1,39 a	99,0 a
Teste F	605,43**	1,79 ^{n.s.}	7,25**
C.V. (%)	1,09	30,29	2,78

(continuação)

Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10⁷/mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,53 a	1,58 a	97,3 a
Azodrin	4,27 b	1,60 a	96,8 a
Lannate	4,53 a	1,81 a	96,0 a
Teste F	8,69**	0,39 ^{n.s.}	0,49 ^{n.s.}
C.V. (%)	2,79	29,29	2,45

Tratamentos	Diâmetro (cm)	Conídios (x 10⁷/mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,01 b	0,92 a	98,0 b
Omite	4,07 b	0,96 a	99,3 a b
Provado	4,28 a	0,84 a	98,5 a b
Trigard	4,02 b	0,54 b	99,6 a
Teste F	13,55**	14,62**	4,92**
C.V. (%)	2,07	14,92	0,85

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

^{n.s.} = não significativo

C.V.= Coeficiente de Variação

Neves et al. (2001), Cavalcanti et al. (2002), Loureiro et al. (2002) e Andaló et al. (2004) verificaram a compatibilidade de alguns produtos ao fungo *Beauveria bassiana* e também observaram que, em relação à esporulação, o produto Actara não diferiu da testemunha. Almeida et al. (2003) avaliaram duas doses de Actara (30 e 200g/ha) para os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. lecanii* e verificaram que a esporulação de *M. anisopliae* não diferiu da testemunha nas duas dosagens. Já para *L. lecanii* a maior dosagem diferiu da testemunha, indicando redução na produção de conídios e para *B. bassiana* a dosagem maior foi a que não diferiu.

Avaliando duas dosagens de Actara, Batista Filho et al. (2001) obtiveram resultados semelhantes, para a esporulação dos fungos *B. bassiana* (IBCB 66), *M. anisopliae* (SPL 358) e *Sporothrix insectorum* (IBCB 79). O resultado foi semelhante para estes fungos nos tratamentos com as duas dosagens do produto Confidor, com exceção do fungo *M. anisopliae* na dosagem mínima, que apresentou redução na produção de conídios. Neves et al. (2001) avaliaram três dosagens diferentes deste mesmo produto e verificaram que para os fungos *B. bassiana* (447), *M. anisopliae* (E 9) e *Paecilomyces* sp. (CNPSO P77) as dosagens recomendadas também não influenciaram na produção dos conídios. A esporulação do isolado UFLA-4 de *B. bassiana* também não foi influenciada pela utilização de Confidor (CAVALCANTI et al., 2002).

Todos os fungicidas avaliados foram classificados como tóxicos ou muito tóxicos. Já entre os inseticidas e acaricidas avaliados somente Thiodan, nas duas dosagens, foi classificado como muito tóxico e os demais produtos foram compatíveis (Tabela 5).

Esses resultados concordam com os obtidos por Tamai et al. (2002) para os fungicidas Cercobin, Dithane, Folicur e Rovral, os inseticidas Confidor, Orthene e Provado, e o acaricida Vertimec em relação ao isolado PL 63 de *B. bassiana*. Apesar de ter sido utilizado o mesmo método, para alguns produtos como o acaricida Omite e os inseticidas Dicarzol, Lannate, Mesurol e Trigard, classificados neste trabalho como compatíveis, não seguiram a mesma classificação apresentada por Tamai et al. (2002).

A classificação de Omite e Trigard foi moderadamente tóxico; Dicarzol e Mesurol muito tóxico e Lannate tóxico para o fungo *B. bassiana*. Isso mostra a grande diversidade genética natural encontrada entre as diferentes espécies de fungos entomopatogênicos e até mesmo a variabilidade entre isolados de uma mesma espécie.

Tabela 5 – Valores de T e classificação dos agrotóxicos recomendados e utilizados na cultura do crisântemo quanto à compatibilidade ao isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* em laboratório.

Produto	Valores de T	Classificação*
Fungicidas		
Alto 100 Máximo	27,83	MT
Alto 100 Mínimo	11,80	MT
Antracol	0	MT
Cercobin	0	MT
Cuprozeb	23,92	MT
Dithane	0	MT
Folicur	0	MT
Rovral	34,37	T
Stratego	0	MT
Inseticidas		
Actara	106, 65	C
Azodrin	99,65	C
Confidor Máximo	67, 94	C
Confidor Mínimo	61,01	C
Dicarzol	82,69	C
Lannate	111,00	C
Mesurool	70,12	C
Orthene	72,93	C
Provado	94,11	C
Thiodan Máximo	0	MT
Thiodan Mínimo	16,38	MT
Trigard	66,44	C
Acaricidas		
Omite	61,30	C
Vertimec Máximo	115,45	C
Vertimec Mínimo	92,49	C

* C = compatível, MT = muito tóxico, T= tóxico.

Um dos principais fatores envolvidos no nível de toxicidade dos produtos fitossanitários aos fungos entomopatogênicos é o modo de ação do ingrediente ativo. Moléculas como mancozeb pertencem ao grupo dos fungicidas protetores, que se caracterizam por apresentarem atividades em múltiplos sítios de ação, afetando grande número de processos vitais de fungos fitopatogênicos (GHINI & KIMATI, 2000). Assim, verificou-se que essa molécula não foi seletiva ao isolado JAB 02 de *L. lecanii*.

Os produtos Confidor e Provado que possuem o mesmo princípio ativo foram compatíveis ao isolado JAB 02 de *L. lecanii* (Tabela 5) mostrando que não houve efeito desta molécula sobre o fungo, apesar da diferença na formulação do produto.

Segundo Morris (1977), a presença de emulsionantes, inertes e outros aditivos nas formulações contribui para agravar o problema da compatibilidade dos inseticidas com entomopatógenos, constituindo mais um fator importante a ser considerado e controlado na elaboração de produtos comerciais.

O inseticida Actara 250 WG foi classificado como compatível (Tabela 5) concordando com os resultados obtidos por vários autores (Batista Filho et al., 2001; Neves et al., 2001; Cavalcanti et al. 2002; Loureiro et al., 2002; Almeida et al., 2003; Oliveira et al., 2003; Andaló et al., 2004).

Tanzini et al. (2002) verificaram a compatibilidade dos fungos *B. brongniartii* (619), *L. lecanii* (972), *M. anisopliae* (1144 e 1189), *P. fumosoroseus* (1200), *S. insectorum* (1229) e *B. bassiana* (1196), que podem ser utilizados no controle do percevejo-de-renda da seringueira (*L. heveae*), a alguns produtos fitossanitários utilizados nesta cultura. O princípio ativo monocrotofós (Nuvacron[®]) foi compatível aos fungos testados com exceção dos dois isolados de *M. anisopliae* avaliados. O resultado semelhante encontrado para *L. lecanii*, para o produto Azodrin, de mesmo princípio ativo, indica que as diferentes formulações não causaram efeito sobre os fungos.

O inseticida Thiodan foi classificado como muito tóxico (Tabela 5), resultado que concorda com os obtidos por Batista Filho et al. (2001) em seu trabalho de compatibilidade com os fungos *B. bassiana* (isolado IBCB 66), *M. anisopliae* (isolado SPL 358) e *Sporothrix insectorum* (isolado IBCB 79) que foram classificados como incompatíveis. Entretanto, para alguns produtos os resultados foram diferentes. Confidor, que foi classificado como compatível para JAB 02, também foi compatível para *S. insectorum*, entretanto para *B.*

bassiana foi moderadamente tóxico e para *M. anisopliae* foi tóxico, diferindo do obtido no presente trabalho (Tabela 5).

Em experimento de compatibilidade realizado por Loureiro et al. (2002), Dithane e Folicur 200 CE foram considerados muito tóxicos, concordando com os resultados obtidos.

Uma estratégia para reduzir o efeito restritivo dos fungicidas à utilização de fungos entomopatogênicos é a adoção conjunta de diversas medidas como uso de mudas sadias e variedades resistentes, manejo da irrigação, remoção de mudas e plantas doentes (ZAMBOLIM et al., 1999). Outra maneira seria a aplicação do fungicida apenas onde a doença se encontra, ou seja, nos focos, e fazer a pulverização do fungicida em intervalos de tempo suficientes para não coincidir com as fases mais suscetíveis da interação patógeno e hospedeiro que podem variar de 48 a 72 horas, tempo este suficiente para que o conídio germine e invada o hospedeiro (TAMAI et al., 2002).

As Figuras 6 e 7 permitem visualizar o crescimento radial do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* em meio de cultura contendo diferentes agrotóxicos.

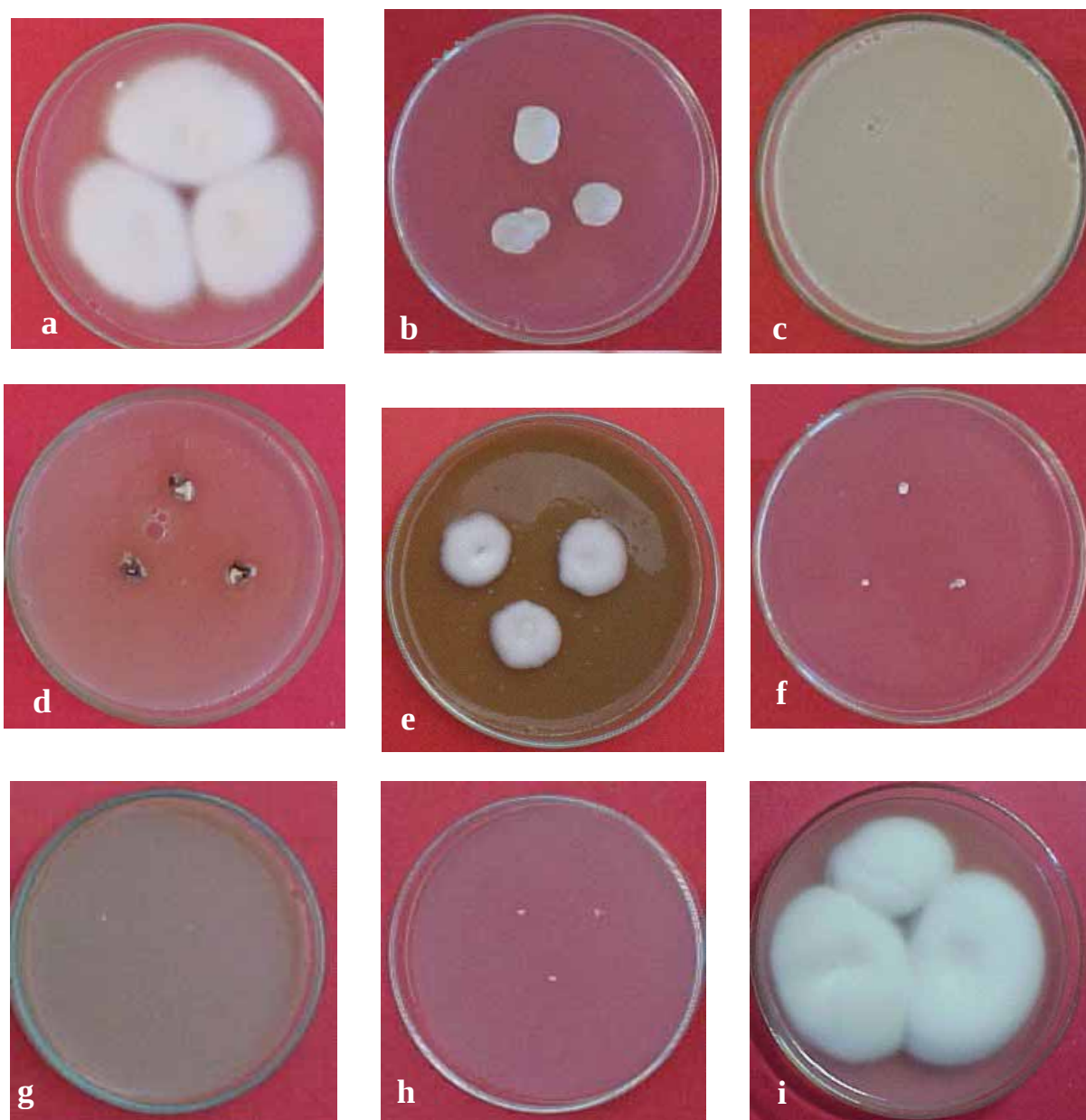


Figura 6. Crescimento do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, após 16 dias de cultivo, em meio de cultura contendo fungicidas, $T=25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase=12 horas. a) Testemunha, b) Alto 100 máximo, c) Antracol, d) Cercobin, e) Cuprozeb, f) Stratego, g) Dithane, h) Folicur e i) Rovral.

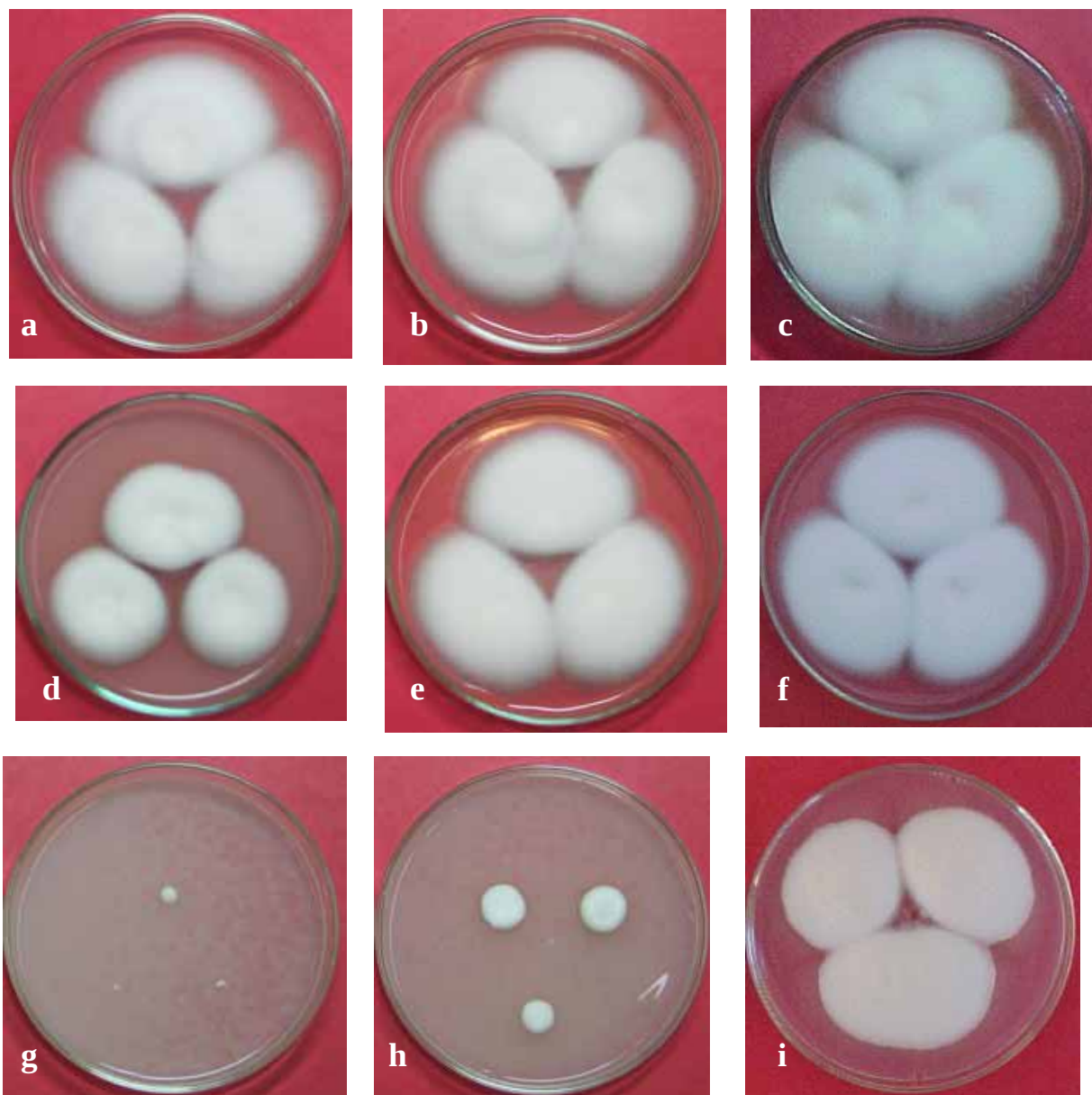


Figura 7. Crescimento do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, após 16 dias de cultivo, em meio de cultura contendo inseticidas e acaricidas, $T=25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase=12 horas. a) Testemunha, b) Orthene, c) Actara, d) Omite, e) Confidor Máximo, f) Dicarzol, g) Thiodan máximo, h) Thiodan Mínimo e i) Vertimec Máximo.

4.2.2 Em Estufa

A sobrevivência dos propágulos pode variar em função da superfície e do tipo de substrato em que são aplicados (ar, solo, água, folha, hospedeiro, produto químico) (MC COY et al., 1988 citado por TANADA & KAYA, 1992), desta forma, como era esperado, houve um decréscimo do inóculo de *L. lecanii* nas folhas avaliadas à medida que o tempo de coleta aumentou.

No tratamento com o fungicida Rovral o número de colônias formadas foi superior às da testemunha no tempo de 0 hora e não diferiu estatisticamente desta nos outros três tempos avaliados. Já os fungicidas Cercobin, Folicur, Stratego, Alto 100 nas duas dosagens e Thiodan na dosagem máxima não diferiram da testemunha no tempo de 0 hora (Tabela 6).

No tempo de 24 horas, as duas dosagens de Alto 100 não diferiram da testemunha e, em 48 horas, o fungicida Alto 100 Máximo foi semelhante à testemunha. Já no tempo de 72 horas alguns produtos não diferiram da testemunha como as duas dosagens de Thiodan e Alto 100 (Tabela 6).

Tabela 6. Número médio de colônias do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* formadas de suspensões obtidas das lavagens de folhas de crisântemo tratadas com agrotóxicos após 7 dias de cultivo à temperatura de $25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas.

Tratamentos	Tempo de coleta			
	0 hora ¹	24 horas ¹	48 horas ¹	72 horas ¹
Testemunha	312 B	91 a	72 A	58 a
Antracol	25 c	1 d	0 D	0 c
Cercobin	287 B	46 b	34 Bc	17 b
Dithane	22 c	0 d	0,6 D	0 c
Folicur	330 B	20 c	23 C	5 c
Rovral	500 A	61 ab	51 Ab	52 a
Stratego	214 B	1 d	0,3 D	0 c
Teste F	58,80**	68,75**	51,78**	58,67**
C.V.(%)	15,25	22,18	25,09	27,04
Tratamentos	0 hora ²	24 horas ²	48 horas ¹	72 horas ¹
Testemunha	241 Ab	89 a	47 A	11 a
Alto 100 mínimo	246 A	78 a	21 C	7 ab
Alto 100 máximo	263 a	86 a	39 Ab	14 a
Cuprozeb	179 c	5 c	4 D	2 b
Thiodan mínimo	152 c	37 b	26 Bc	12 a
Thiodan máximo	186 bc	21 bc	17 C	14 a
Teste F	11,02**	86,71**	44,88**	6,27**
C. V. (%)	15,50	18,17	13,05	24,84

¹ Dados originais na tabela, porém, transformados em $\sqrt{x+1}$ para a análise estatística. ² Dados originais na tabela e não transformados para a análise estatística

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

C.V.= Coeficiente de Variação

Após 48 horas pode ser observado que Rovral e a testemunha são os tratamentos que ainda proporcionam maior número de colônias formadas e isso se repete no tempo de 72 horas. Pode ser notado que, no decorrer do período em que foram realizadas as coletas, houve uma diminuição do número de colônias em todos os tratamentos (Tabela 6).

Alguns produtos foram mais drásticos em relação à toxicidade, os quais apresentaram poucas colônias e impediram a sua formação nos tempos posteriores, como os fungicidas Antracol, Dithane, Folicur, Stratego (Figura 8) e Cuprozeb (Figura 9 e 10).

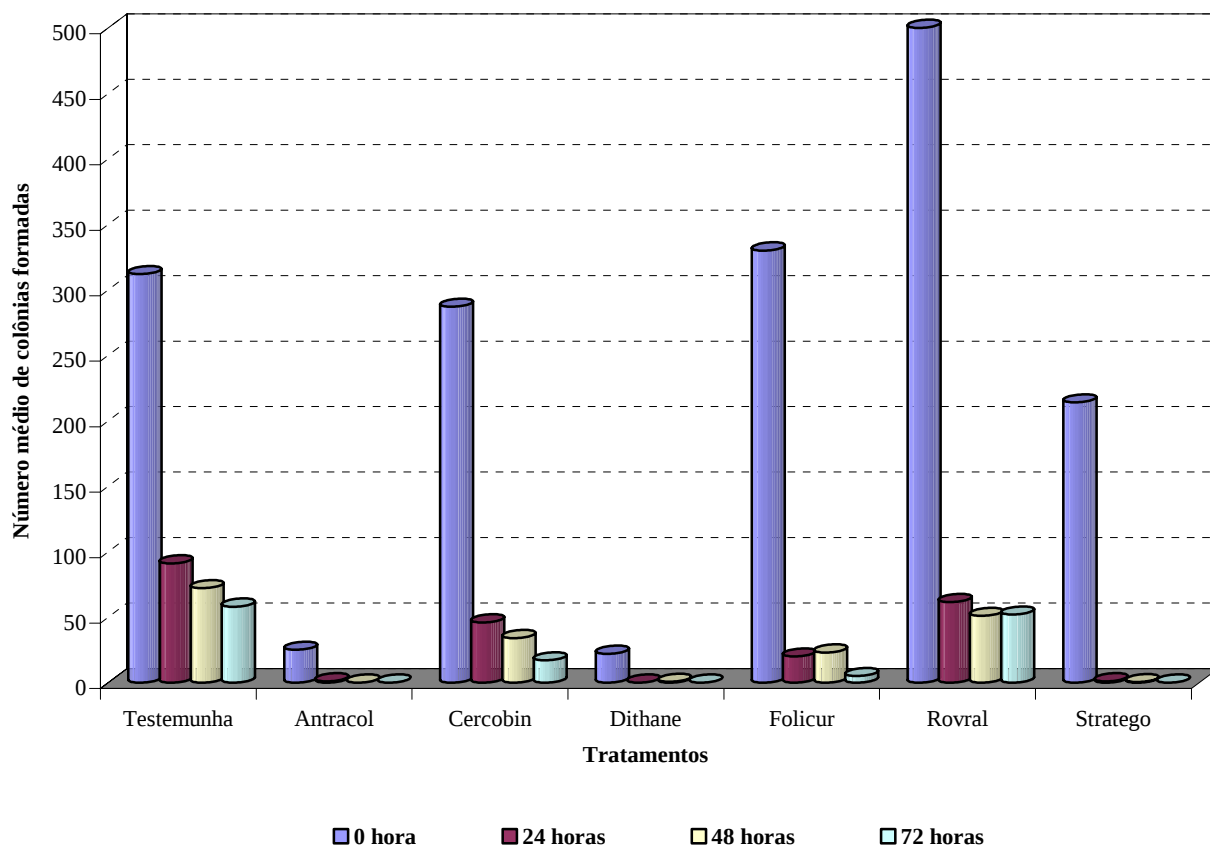


Figura 8. Número de colônias do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, após 7 dias de cultivo a $25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas, obtido da suspensão de folhas de crisântemo tratadas previamente com fungicidas e coletadas em diferentes tempos.

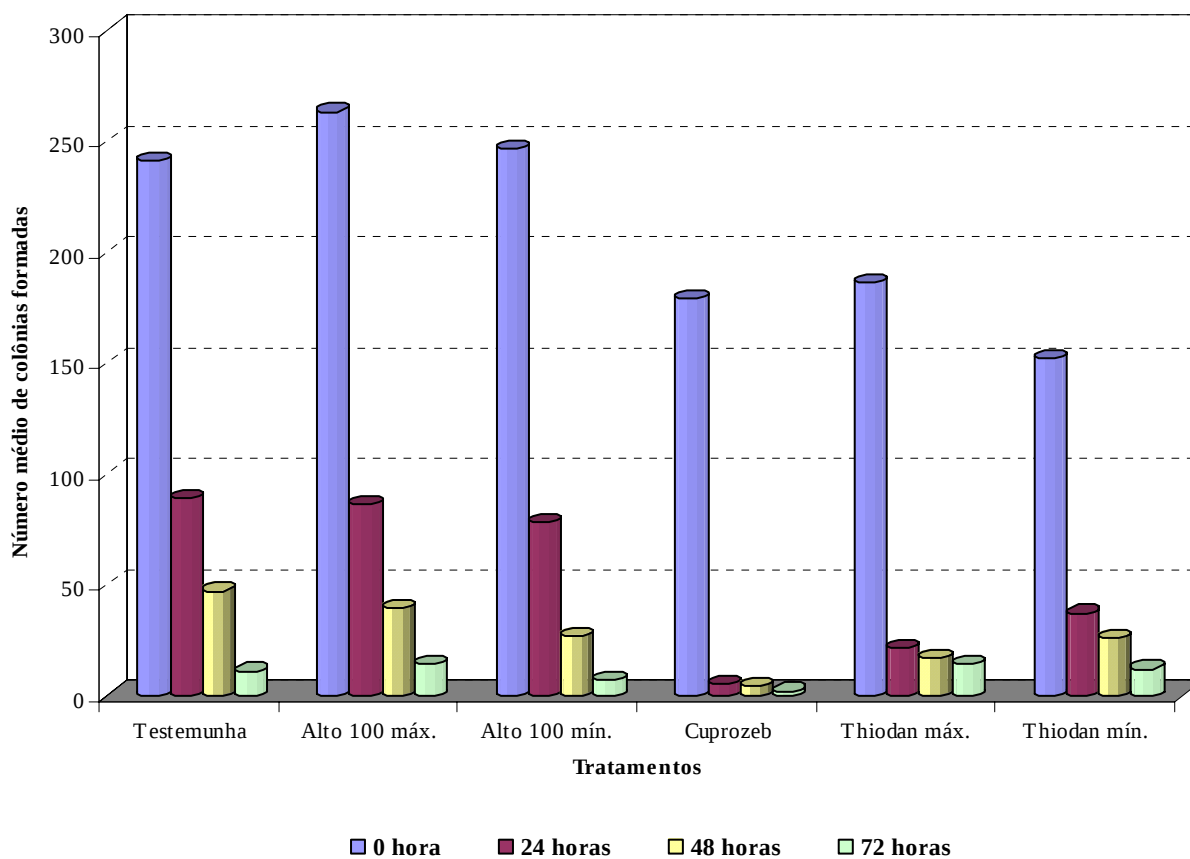


Figura 9. Número de colônias do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, após 7 dias de cultivo a $25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas, obtido da suspensão de folhas de crisântemo tratadas previamente com fungicidas e inseticida e coletadas em diferentes tempos.

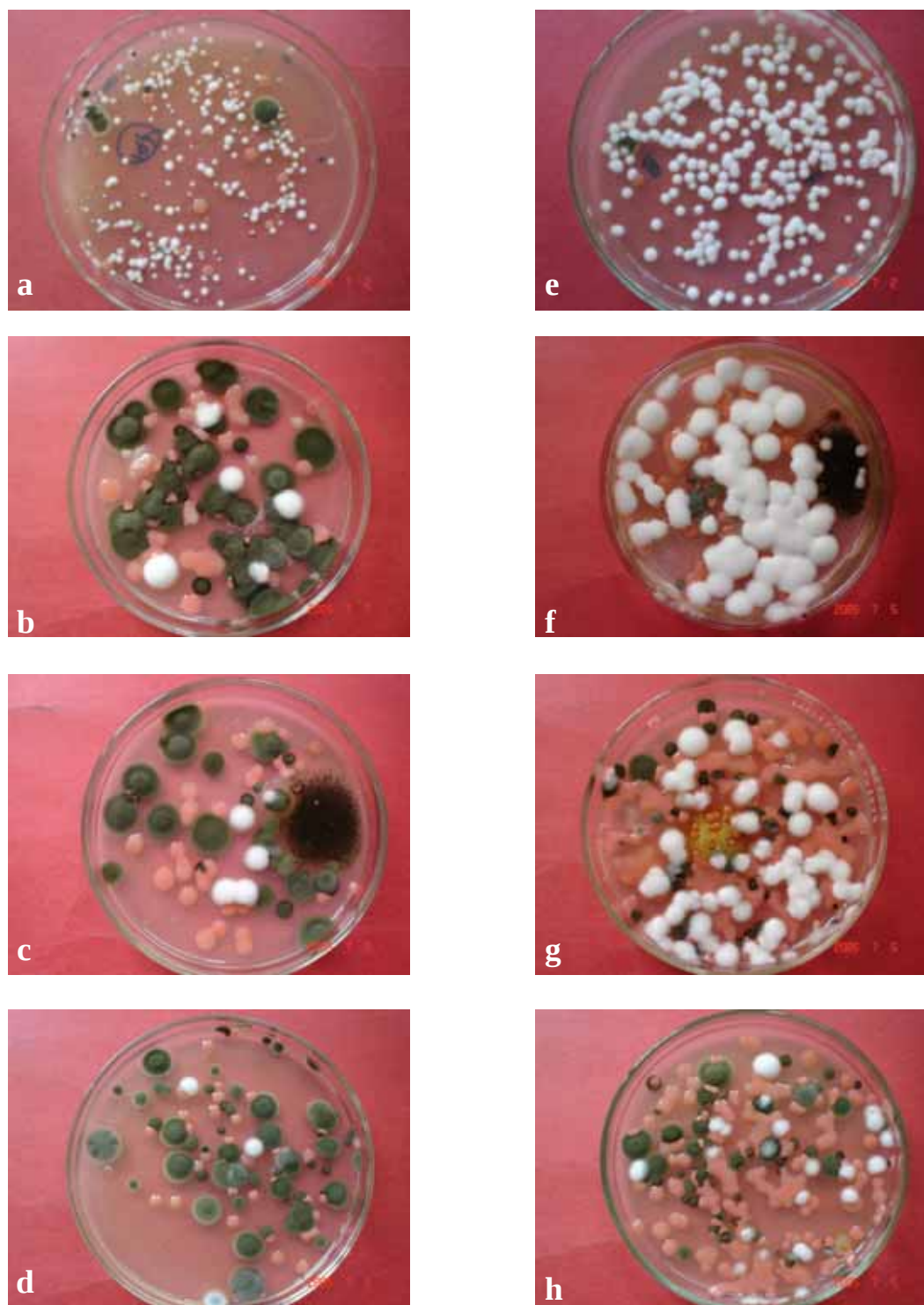


Figura 10. Colônias formadas após aplicação prévia do fungicida Cuprozeb e de *Lecanicillium lecanii* nas folhas de crisântemo, seguida da coleta de material em diferentes tempos. [a) 0 hora, b) 24 horas, c) 48 horas e d) 72 horas] e testemunha [e) 0 hora, f) 24 horas, g) 48 horas e h) 72 horas], após cultivo por 7 dias a $25,5 \pm 0,5$ °C e fotofase de 12 horas.

Em experimento objetivando o planejamento de aplicações do fungicida Benomil e do fungo *L. lecanii* na forma do produto comercial Vertalec em estufas de crisântemo, Gardner et al. (1984) verificaram que o número de colônias formadas imediatamente após os tratamentos foi mais alto. As suspensões de folhas, do tratamento Vertalec, coletadas no dia da aplicação, formaram 146,4 colônias e após 14 dias o número foi nulo. Os autores, em testes preliminares, verificaram que a aplicação de Benomil, depois da aplicação do fungo, resultou em total inibição das unidades formadoras de colônias. Já para a aplicação do fungicida antes do fungo, a atividade do fungicida não foi totalmente deletéria. A formação das colônias provenientes do plaqueamento das suspensões coletadas imediatamente após a aplicação de Vertalec demonstrou que a pulverização de Benomil três dias antes e imediatamente antes da pulverização de Vertalec inibiu o número de colônias que se formaram. A atividade de Vertalec não foi inibida por Benomil quando o fungicida foi aplicado 7 dias ou mais antes do fungo.

A ordem de aplicação dos produtos foi avaliada no campo por Gassen et al. (2004) para *Bacillus thuringiensis* quanto à compatibilidade de inseticidas utilizados em cana-de-açúcar. Neste caso, a ordem de aplicação não influenciou nos resultados.

Almeida et al. (2003) verificaram a compatibilidade, em campo, de defensivos agrícolas utilizados na cultura do café para o fungo *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Foram considerados os seguintes tratamentos Verdadero 20GR (500g/ha), Verdadero 20GR (500g/ha) + *B. bassiana* (1 Kg/ha), Actara 250WG (200g/ha), Actara 250WG (200g/ha) + *B. bassiana*, *B. bassiana*, Thiodan CE (2L/ha), Thiodan CE (2L/ha) + *B. bassiana* e testemunha. Os autores verificaram que não houve influência dos tratamentos na dinâmica de *B. bassiana* e *M. anisopliae* e que também não houve diferença estatística nas contagens de colônias nas folhas e em frutos, ou seja, os produtos não influenciaram na formação das colônias de *B. bassiana*, que foi aplicada, e de *M. anisopliae* por ocorrência natural.

Batista Filho et al. (2003) avaliaram o impacto de inseticidas sobre inimigos naturais na cultura da soja. No campo, os autores verificaram que, apesar dos tratamentos com os inseticidas, foram observadas lagartas de *Anticarsia gemmatilis* e adultos de *Cerotoma* spp. colonizados por *Nomuraea rileyi* e *B. bassiana*, respectivamente. O potencial de inóculo dos fungos não foi reduzido pela ação dos inseticidas Actara Mix,

Curyom e Thiodan, pois, em todos os tratamentos e tempos avaliados, foi verificada a presença de insetos mortos pela ação dos patógenos, não diferenciando da testemunha.

A complementação entre os ensaios de compatibilidade realizados em laboratório e na estufa torna-se importante porque a condição de contato entre produto e fungo, em condição de estufa, não é tão extrema e pode revelar resultados interessantes. No caso do fungicida Rovral, que em laboratório, foi muito tóxico, em estufa foi semelhante à testemunha apresentando um número de colônias até superior ao dela, indicando a possibilidade de uso escalonado entre fungicida e fungo.

4.3 Patogenicidade de *Lecanicillium lecanii* Cultivado em Meio de Cultura contendo Inseticidas e Acaricidas ao Ácaro Rajado *Tetranychus urticae*

Foi verificada a mortalidade dos ácaros *Tetranychus urticae*, pelo isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, quando receberam a pulverização com os conídios obtidos nos meios de cultura contendo inseticidas e acaricidas químicos. As mortalidades não confirmadas na testemunha com água e nos tratamentos ficaram abaixo de 20% e os dados para essas análises foram transformados em $\sqrt{x+10}$.

Não houve diferença estatística quanto a mortalidade nos tempos 2, 4 e 6 dias de avaliação para os produtos Confidor (dosagens máxima e mínima), Orthene e o isolado JAB 02. No sexto dia de avaliação, as mortalidades confirmadas variaram entre 57 e 65,5 % (Figura 11).

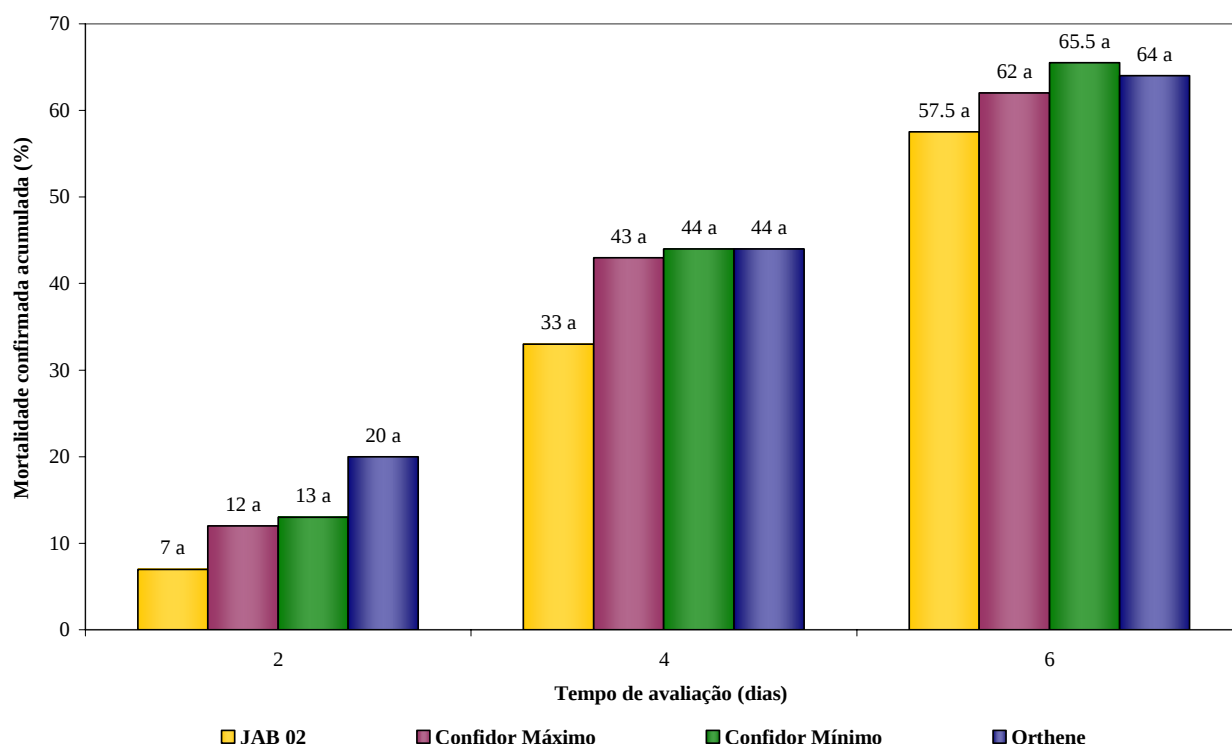


Figura 11. Mortalidade confirmada, no sexto dia, de *Tetranychus urticae* pulverizados com conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* produzidos em meio de cultura contendo os inseticidas Confidor e Orthene (2 dias $F=1,01^{n.s.}$, C.V.=24,15%, 4 dias $F=0,98^{n.s.}$, C.V.=12,96% e 6 dias $F=0,40^{n.s.}$ e C.V.=10,14%).

O tratamento com o produto Vertimec mínimo apresentou diferença estatística dos demais tratamentos, em relação à mortalidade confirmada, já no segundo dia de avaliação. No quarto dia, as mortalidades de *T. urticae* foram estatisticamente iguais para os produtos Vertimec mínimo, Thiodan mínimo e o tratamento com JAB 02. No sexto dia não houve diferença estatística entre os tratamentos e as mortalidades no final do período de avaliação variaram entre 52 e 67 % (Figura 12).

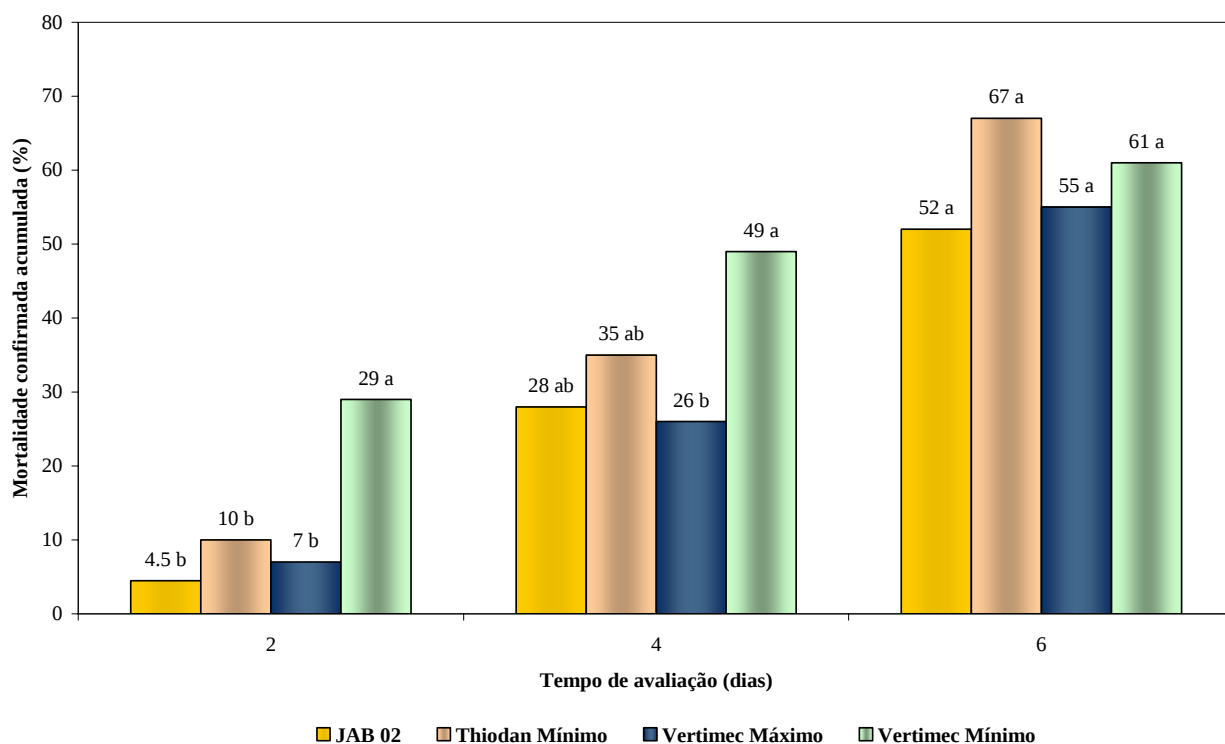


Figura 12. Mortalidade confirmada, no sexto dia, de *Tetranychus urticae* pulverizados com conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* produzidos em meio de cultura contendo os produtos Thiodan e Vertimec (2 dias $F=11,05^{**}$, C.V.=17,85%, 4 dias $F= 3,88^{*}$, C.V.=14,56% e 6 dias $F=1,16^{n.s.}$ e C.V.=12,09).

A testemunha diferiu estatisticamente do tratamento Mesurol apenas no quarto dia de avaliação. A testemunha fúngica, Actara e Dicarzol foram estatisticamente iguais entre si nos três tempos avaliados. No sexto dia a testemunha fúngica apresentou mortalidade de 76% (Figura 13).

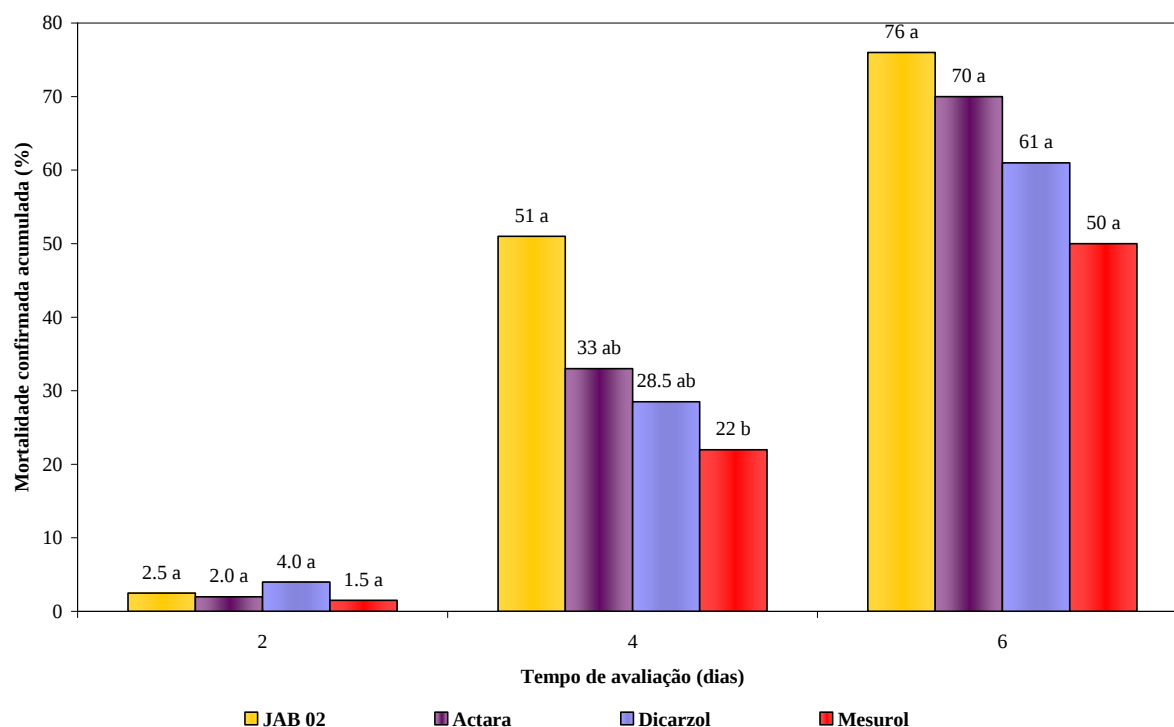


Figura 13. Mortalidade confirmada, no sexto dia, de *Tetranychus urticae* pulverizados com conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* produzidos em meio de cultura contendo os inseticidas Actara, Dicarzol e Mesurol (2 dias $F=0,49^{n.s.}$, C.V.=16,56%, 4 dias $F= 3,09^*$, C.V.=20,06% e 6 dias $F=2,74^{n.s.}$ e C.V.=12,16%).

Não houve diferença estatística entre os tratamentos testemunha fúngica, Omite, Provado e Trigard, nos três tempos avaliados com mortalidades confirmadas variando de 53 a 70 % no sexto dia de avaliação (Figura 14). O mesmo foi observado entre os tratamentos testemunha fúngica, Azodrin e Lannate com mortalidades entre 47 a 56% (Figura 15).

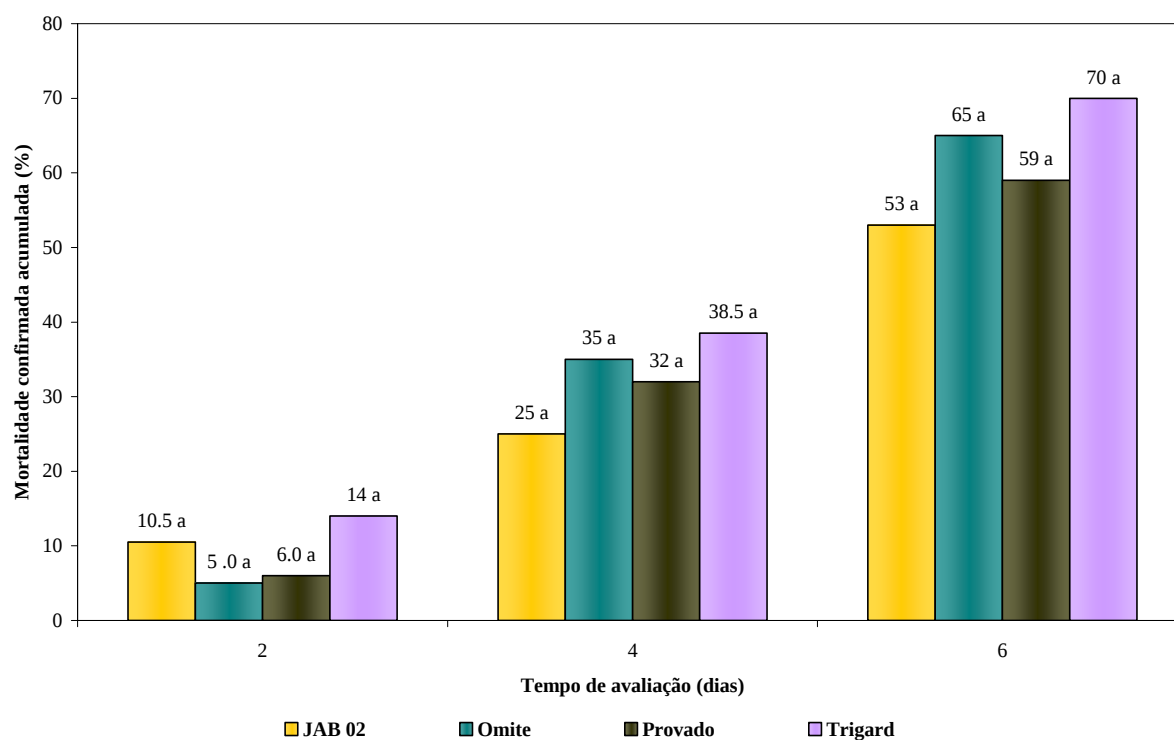


Figura 14. Mortalidade confirmada, no sexto dia, de *Tetranychus urticae* pulverizados com conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* produzidos em meio de cultura contendo os produtos Omite, Provado e Trigard (2 dias $F=1,17^{n.s.}$, C.V.=25,07%, 4 dias $F=1,36^{n.s.}$, C.V.=15,99% e 6 dias $F=1,88^{n.s.}$ e C.V.=9,45%).

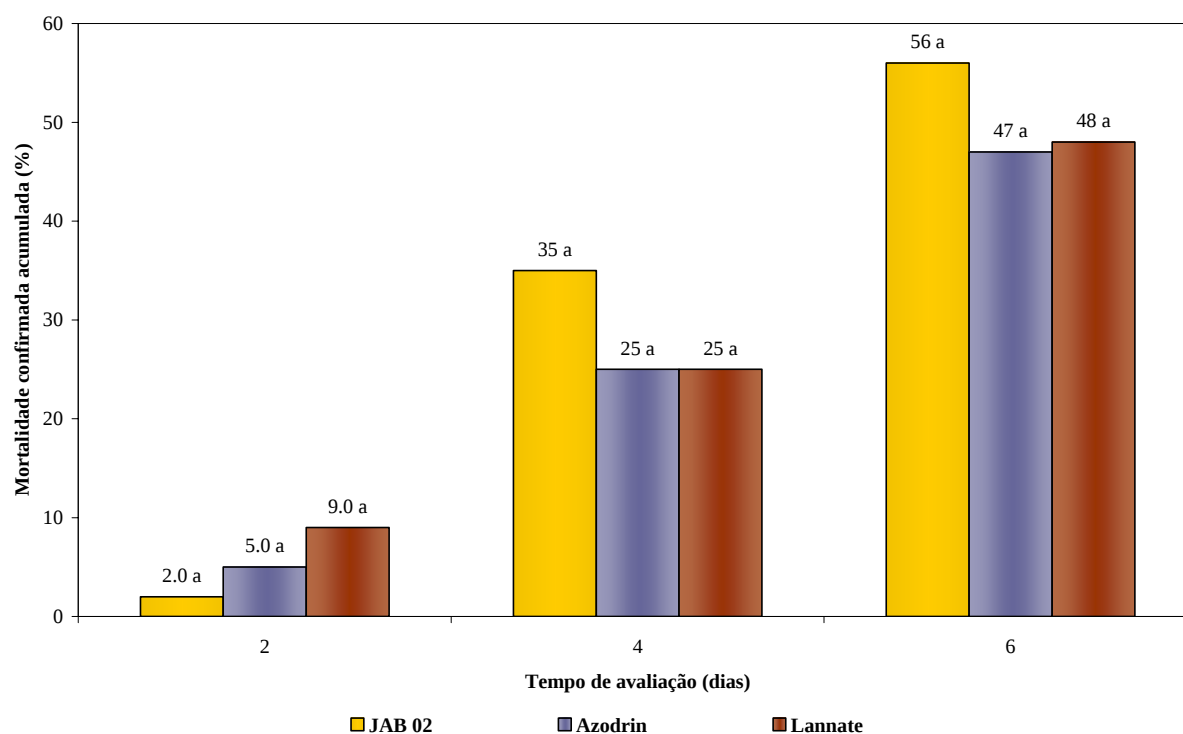


Figura 15. Mortalidade confirmada, no sexto dia, de *Tetranychus urticae* pulverizados com conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* produzidos em meio de cultura contendo os inseticidas Azodrin e Lannate (2 dias $F=1,59^{n.s.}$, C.V.=20,23%, 4 dias $F= 1,91^{n.s.}$, C.V.=14,30% e 6 dias $F=0,84^{n.s.}$ e C.V.=12,15%).

Através dos resultados apresentados, pôde ser observado que os produtos não influenciaram na capacidade do conídio causar a doença e completar seu ciclo no hospedeiro. A germinação do conídio, uma das etapas consideradas mais importantes do ciclo, não foi afetada pelos produtos químicos.

A germinação é dependente das condições nutricionais. A ausência, qualitativa e quantitativa de nutrientes afetam a germinação assim como, componentes do tegumento do hospedeiro entre outros (TANADA & KAYA, 1992).

A efetividade dos inseticidas microbianos depende de vários fatores incluindo a suscetibilidade natural da praga-alvo, ao grau de exposição ao produto microbiano, às condições ambientais e às interações fisiológicas entre hospedeiro e patógeno.

Geralmente, os primeiros instares são mais suscetíveis aos patógenos. Insetos sobre “stress”, assim como aqueles enfraquecidos por outro patógeno ou por condição alimentar inadequada ou ainda amontoados são mais facilmente controlados do que os insetos em condições naturais (TANADA & KAYA, 1992).

No presente trabalho, não houve influência da possível presença dos agrotóxicos na suspensão, que foi pulverizada, sobre o ácaro, debilitando-o e tornando mais fácil a entrada do fungo, pois as porcentagens de mortalidade nos tratamentos proporcionaram mortalidades bastante semelhantes à da testemunha.

A patogenicidade de conídios do fungo *B. bassiana*, tratados com os produtos Actara, Confidor, Meothrin e Rovral em lagartas de *Galleria mellonella*, foi estudada por Cavalcanti et al. (2002). Os autores verificaram que, para Rovral, mesmo não havendo diferença estatística da testemunha, a porcentagem de mortalidade de *G. mellonella* foi acentuadamente reduzida, pois o valor de mortalidade foi de 48% enquanto na testemunha foi de 84%.

4.4 Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* a Nematóides Entomopatogênicos

Não houve efeito de *L. lecanii* na viabilidade do nematóide *Steinernema* sp. (Figura 16) nos diferentes tempos de avaliação. Nas avaliações de 4 e 8 horas não houve diferença estatística entre os tratamentos, já nos tempos de 12 e 24 horas foi verificada diferença (Figura 17). Entretanto, apesar desta diferença, as viabilidades continuaram altas (acima de 85%), indicando que o fungo não afetou o nematóide.

Em relação a infectividade, lagartas de *Galleria mellonella* podem ser observadas mortas pela ação do nematóide na Figura 18.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos nos tempos avaliados, com valores de mortalidade, variando de 72 a 100% (Figura 19).



Figura 16. Suspensão do isolado CB n6 de *Steinernema* sp. obtida para contagem da viabilidade.

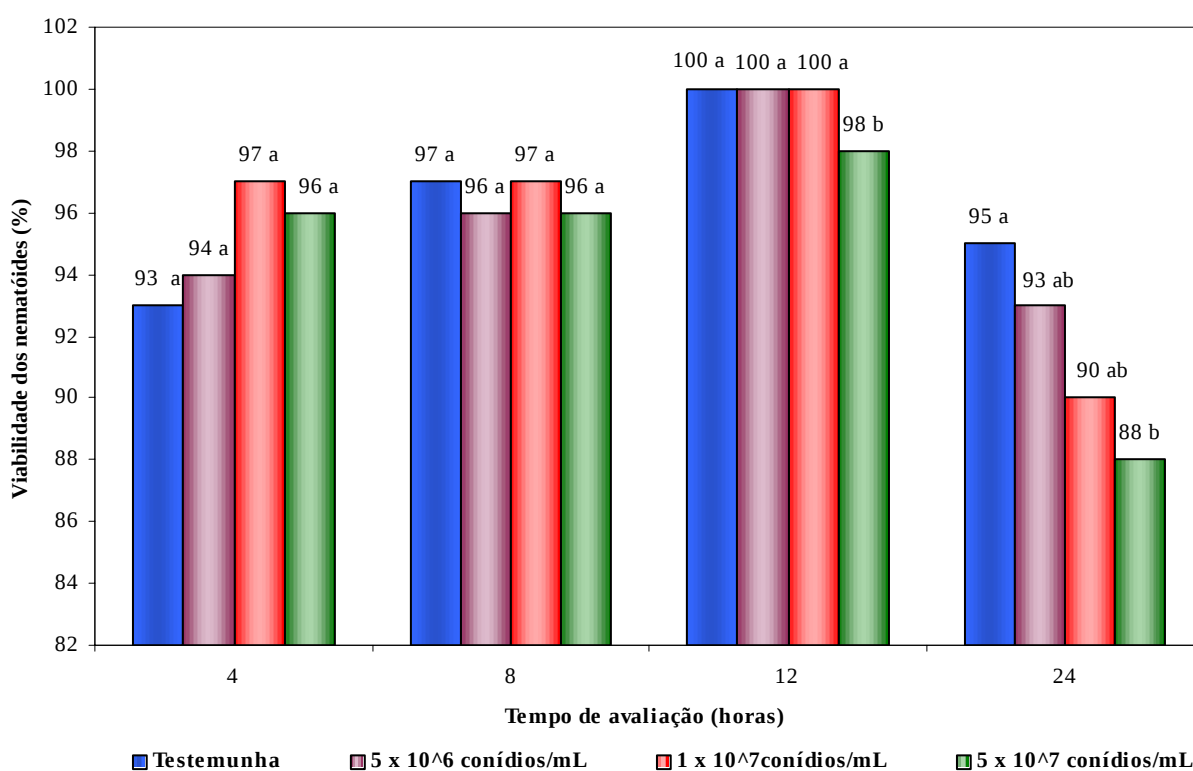


Figura 17. Viabilidade do isolado CB n6 de *Steinernema* sp. após diferentes períodos de exposição em suspensão com várias concentrações de conídios do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii* (4 horas $F=3,20^{n.s.}$, C.V.=2,56%, 8 horas $F=1,24^{n.s.}$, C.V.=1,97%, 12 horas $F=5,67^{**}$, C.V.=1,07% e 24 horas $F=3,83^*$ e C.V.=4,05%).



Figura 18. Lagartas de *Galleria mellonella* mortas pelo isolado CB n6 de *Steinernema* sp.

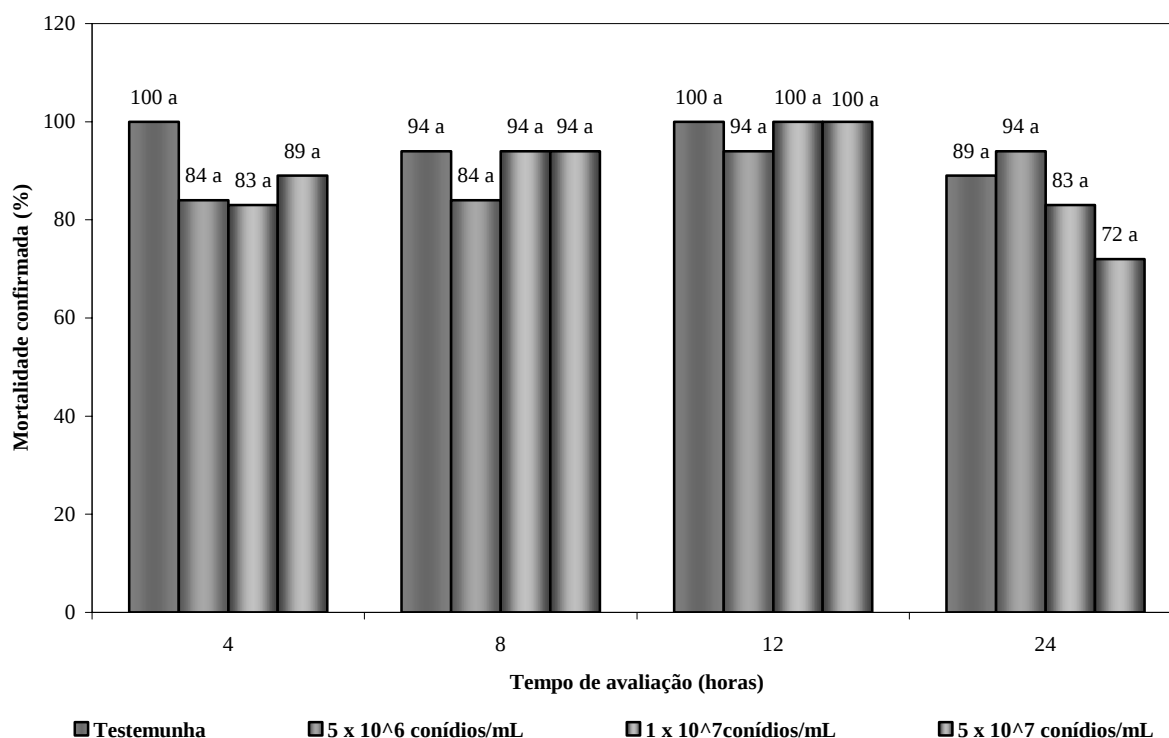


Figura 19. Infectividade do isolado CB n6 de *Steinernema* sp. em lagartas de *Galleria mellonella*, após diferentes períodos de exposição em suspensão com diversas concentrações de conídios do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii* (4 horas $F=1,05^{n.s.}$, C.V.=21,03%, 8 horas $F=0,83^{n.s.}$, C.V.=16,09%, 12 horas $F=1,00^{n.s.}$, C.V.=6,83% e 24 horas $F=1,48^{n.s.}$ e C.V.=22,33%).

Em relação ao isolado CB n5 de *Heterorhabditis indica*, em todos os tempos avaliados, foram observadas diferenças estatísticas, mas como no caso anterior, as viabilidades continuaram altas confirmando a compatibilidade entre nematóide e fungo (Figura 20). Pode ter havido uma pequena influência do fungo na concentração de 5×10^7 conídios/mL sobre o nematóide, pois, em todos os tempos avaliados foi verificada uma queda na viabilidade, entretanto, este fato não compromete a utilização dos dois entomopatógenos a campo, porque dificilmente uma mistura de tanque fica preparada por mais de duas horas antes de ser aplicada, normalmente, as aplicações ocorrem assim que as misturas são feitas.

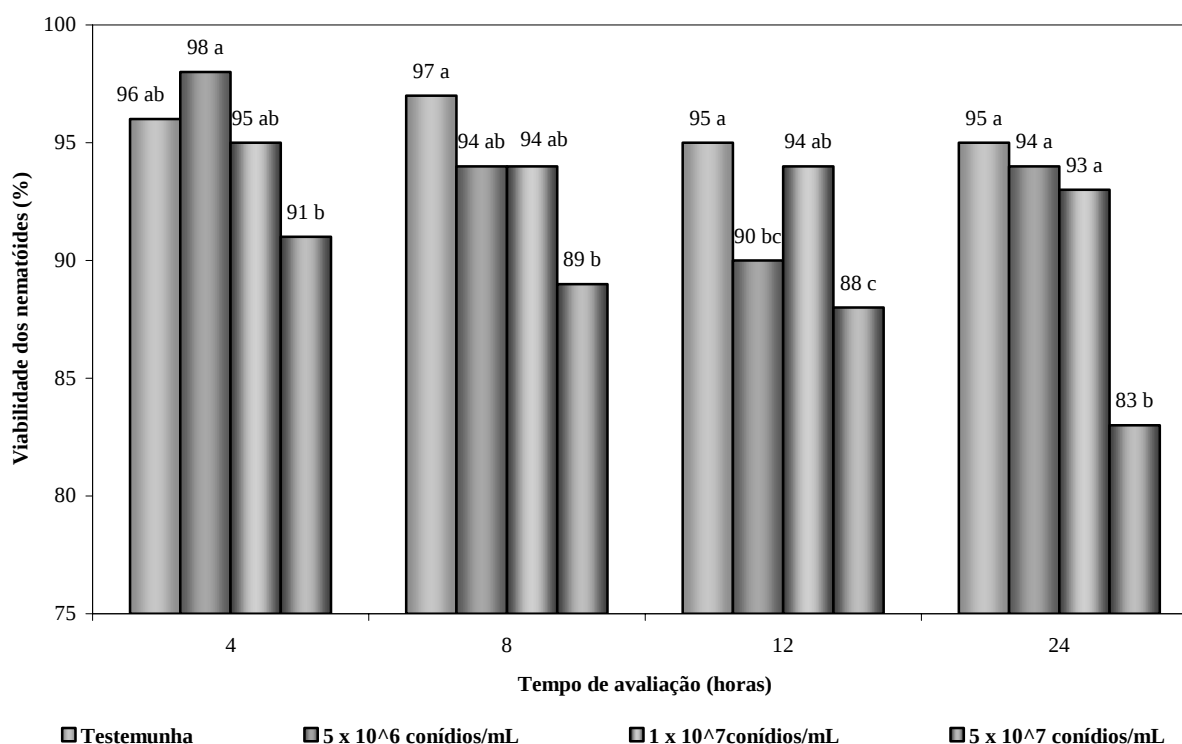


Figura 20. Viabilidade do isolado CB n5 de *Heterorhabditis indica* após diferentes períodos de exposição em suspensão com várias concentrações de conídios do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii* (4 horas $F=5,09^{**}$, C.V.=2,99%, 8 horas $F=3,92^{*}$, C.V.=4,41%, 12 horas $F=10,43^{**}$, C.V.=2,70% e 24 horas $F=9,68^{**}$ e C.V.=4,91%).

A confirmação da infectividade de *H. indica* pôde ser observada através da coloração característica que a bactéria *Photorhabdus* sp. proporciona à lagarta de *G. mellonella* e posteriormente pela saída do nematóide (Figura 21). Não foram verificadas

diferenças estatísticas nos tempos avaliados e os valores de mortalidade ficaram entre 72 e 100% (Figura 22).



Figura 21. Lagartas de *Galleria mellonella* mortas pelo isolado CB n5 de *Heterorhabditis indica*.

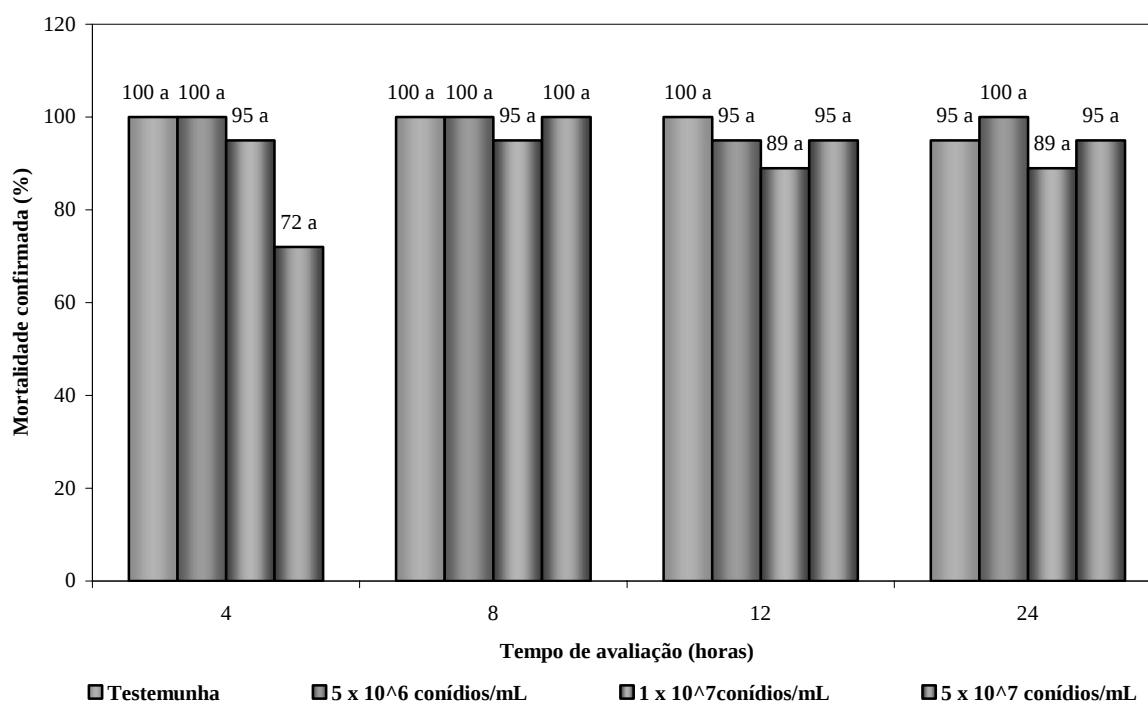


Figura 22. Infectividade do isolado CB n5 de *Heterorhabditis indica* em lagartas de *Galleria mellonella*, após diferentes períodos de exposição em suspensão com diversas concentrações de conídios do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii* (4 horas $F=1,96^{n.s.}$, C.V.=25,29%, 8 horas $F= 1,00^{n.s.}$, C.V.=6,83%, 12 horas $F=6,43^{**}$, C.V.=19,34% e 24 horas $F=0,74^{n.s.}$ e C.V.=13,52%).

Através deste trabalho verificou-se que, caso necessitem ser aplicados na mesma cultura ou ao mesmo tempo, é possível fazer a mistura das duas espécies de nematóides avaliadas com o fungo, pois não há interferência de um sobre o outro. Nos ensaios com as duas espécies de nematóides, apesar da baixa porcentagem foi verificada a presença de lagartas de *Galleria mellonella* com mortes confirmadas pelo fungo, mostrando o efeito de complementação que há na utilização dos dois entomopatógenos.

Cho et al. (2002) avaliaram o controle de *Ectinohoplia rufipes* e *Exomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae) com os nematóides entomopatogênicos *Steinernema carpocapsae*, *S. glaseri*, *H. bacteriophora*, com o fungo *Beauveria brongniartii*, algumas combinações entre eles e o princípio ativo fenitrothion. Os autores verificaram que a combinação de duas espécies de nematóides não aumentou a eficácia quando comparados aos tratamentos com uma espécie de nematóide somente. Porém, a combinação entre *S. carpocapsae* com *B. brongniartii* produzida em SMAY resultou em um aumento significativo na mortalidade nas larvas superior as aplicações do fungo somente.

Shapiro-Ilan et al. (2004) realizaram um estudo para determinar os efeitos da combinação entre nematóides e microrganismos entomopatogênicos. Em testes de laboratório eles aplicaram simultaneamente *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis indica* com os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* (8×10^4 con./cm²), *Paecilomyces fumosoroseus* (8×10^6 blastósporos/cm²) e a bactéria *Serratia marcescens* (8×10^6 células/cm²) para avaliar o controle de *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae) após 14 dias da aplicação. Os autores verificaram que a maioria das combinações com os entomopatógenos resultou em interações antagonistas, exceto para *H. indica* e *M. anisopliae* onde foi observado efeito aditivo.

O antagonismo entre microrganismos e nematóides entomopatogênicos tem sido atribuído a interações indiretas relacionadas à competição pela mesma fonte do hospedeiro. Essas interações estão geralmente associadas com inibição do desenvolvimento do nematóide e reprodução dentro do hospedeiro e não à capacidade de matar o inseto (KAYA, 2002).

Ansari et al. (2004) realizaram experimentos em laboratório e estufa para o controle de *Hoplia philantus* (Coleoptera: Scarabaeidae) com o objetivo de avaliar a interação entre nematóides e fungos entomopatogênicos. Foi utilizado o fungo *M. anisopliae* e

os nematóides *S. glaseri* e *H. megidis*. As larvas do inseto foram expostas a várias concentrações do fungo e dos nematóides que foram adicionados simultaneamente, 2, 3 e 4 semanas após a aplicação do fungo. Os autores verificaram que as interações entre fungos e nematóides foram aditivas e sinérgicas com potencial para a utilização dos dois biocontroladores.

Salama e Abd-Elgawad (2002) avaliaram o efeito da mistura de isolados de *Heterorhabditis* sp., provenientes de diferentes províncias egípcias, com os volumes de 1, 2, 3 e 4 mL de uma suspensão contendo 100×10^6 corpos de inclusão poliédrico/mL do vírus da poliedrose citoplasmática (VPC), mantidos por um período de 21 horas a 7 dias. À medida que o tempo de avaliação foi aumentando a taxa de sobrevivência do nematóide foi diminuindo em todos os tratamentos. Em dois, dos quatro isolados avaliados no menor tempo (21 horas), a maior quantidade do vírus (4 mL) causou prejuízo na sobrevivência do nematóide que obteve valores de 34 e 44%. Desta forma, fica evidente a diferença existente entre o modo de ação entre os entomopatógenos, pois o isolado JAB 02 de *L. lecanii* não afetou a viabilidade das duas espécies de nematóides avaliadas neste trabalho.

A compatibilidade entre nematóides e produtos químicos também foi verificada por vários autores, haja vista, que esses produtos são muito utilizados. Desta forma, é interessante e necessário avaliar a intensidade dos prejuízos causados caso sejam utilizados em conjunto.

Rovesti et al. (1988) verificaram a compatibilidade de pesticidas com o nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis bacteriophora* através da viabilidade, infectividade e mobilidade. Os autores verificaram que alguns agrotóxicos como glifosato proporcionaram aumento na atividade do nematóide, mesmo após três dias de exposição aos produtos químicos, pois eles estavam mais ativos do que os nematóides do tratamento controle. A maioria dos fungicidas testados foi inofensiva e alguns foram muito tóxicos. Fentin-acetato, por exemplo, rapidamente imobilizou os nematóides, conseqüentemente, a infectividade foi altamente reduzida em todas as concentrações. Outros fungicidas como folpete afetaram notadamente a viabilidade dos nematóides nas mais altas concentrações, mas o efeito na infectividade foi limitado ou nulo.

Os agrotóxicos fentin-acetato, dodine, carbendazin, alachlor, paraquat, paration, aldicarbe, carbofuran, metomil entre outros foram tóxicos a *H. bacteriophora* e

alguns deles tiveram um efeito breve sobre os nematóides. Em alguns casos eles rapidamente recuperaram a infectividade e mobilidade após serem lavados ou plaqueados em areia.

Koppenhöfer e Kaya (1998) avaliaram o efeito de aplicações combinadas do nematóide *Heterorhabditis bacteriophora* e o princípio ativo imidacloprid sobre *Cyclocephala* spp. testando a compatibilidade entre eles. Os autores verificaram nos experimentos em estufa que houve uma interação sinérgica entre nematóide e produto em todas as combinações testadas. Em laboratório, após 24 horas de agitação do nematóide com o produto, foi verificado que não houve interferência na viabilidade e infectividade do nematóide.

Negrisoni Júnior (2005) comparou algumas metodologias com o objetivo de avaliar a compatibilidade de produtos fitossanitários aos nematóides entomopatogênicos *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis bacteriophora* e a metodologia selecionada foi o protocolo de Vainio (1992). Através dessa metodologia o autor verificou que alguns produtos afetaram a viabilidade e a infectividade das duas espécies de nematóides. Os produtos Temik e Actara afetaram a viabilidade dos nematóides provocando alta mortalidade (acima de 88%) nas duas espécies avaliadas. Já para a infectividade, *H. bacteriophora* misturado aos produtos Furadan, Temik e Pyrinex provocaram porcentagens de mortalidade de 2, 0, e 7,6%, respectivamente, em lagartas de *G. mellonella*. Apesar do autor ter utilizado uma metodologia semelhante, os resultados discordaram dos obtidos neste trabalho com a utilização do entomopatógeno.

4.5 Seletividade de *Lecanicillium lecanii* a Ácaros Predadores

Foi verificada a seletividade do isolado JAB 02 de *L. lecanii* ao ácaro predador *Neoseiulus barkeri* (Figura 23 a). Não foram constatadas mortalidades confirmadas nos tratamentos avaliados, ou seja, o fungo não foi patogênico. Já para o predador *Neoseiulus californicus* o isolado do fungo foi patogênico, entretanto, as mortalidades confirmadas não passaram de 10% (Figura 23 b). As mortalidades totais de *N. californicus* não diferiram estatisticamente entre si e não diferiram estatisticamente da testemunha (Figura 24), assim o isolado JAB 02 de *L. lecanii* foi considerado seletivo.

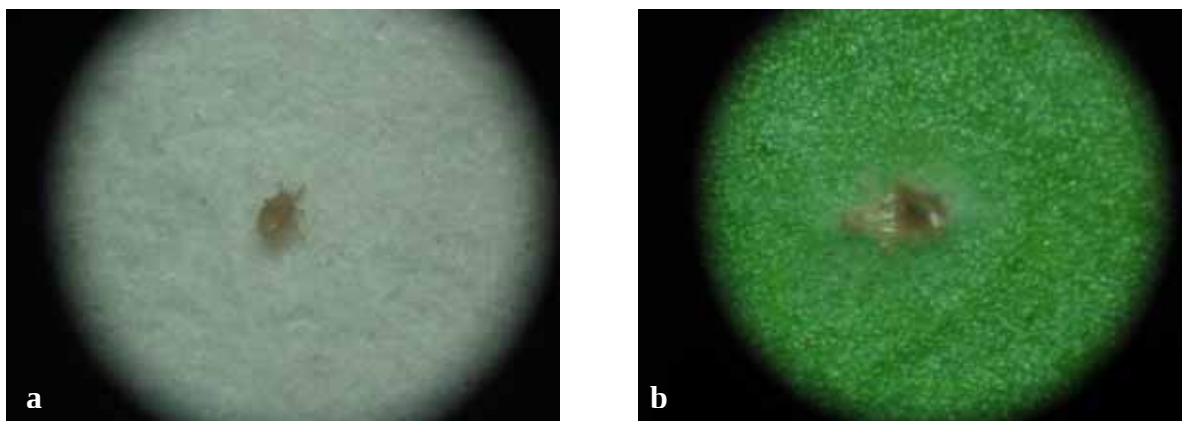


Figura 23. Ácaros predadores, após pulverização com diferentes concentrações do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* a) *Neoseiulus barkeri* vivo e b) *Neoseiulus californicus* morto pelo fungo.

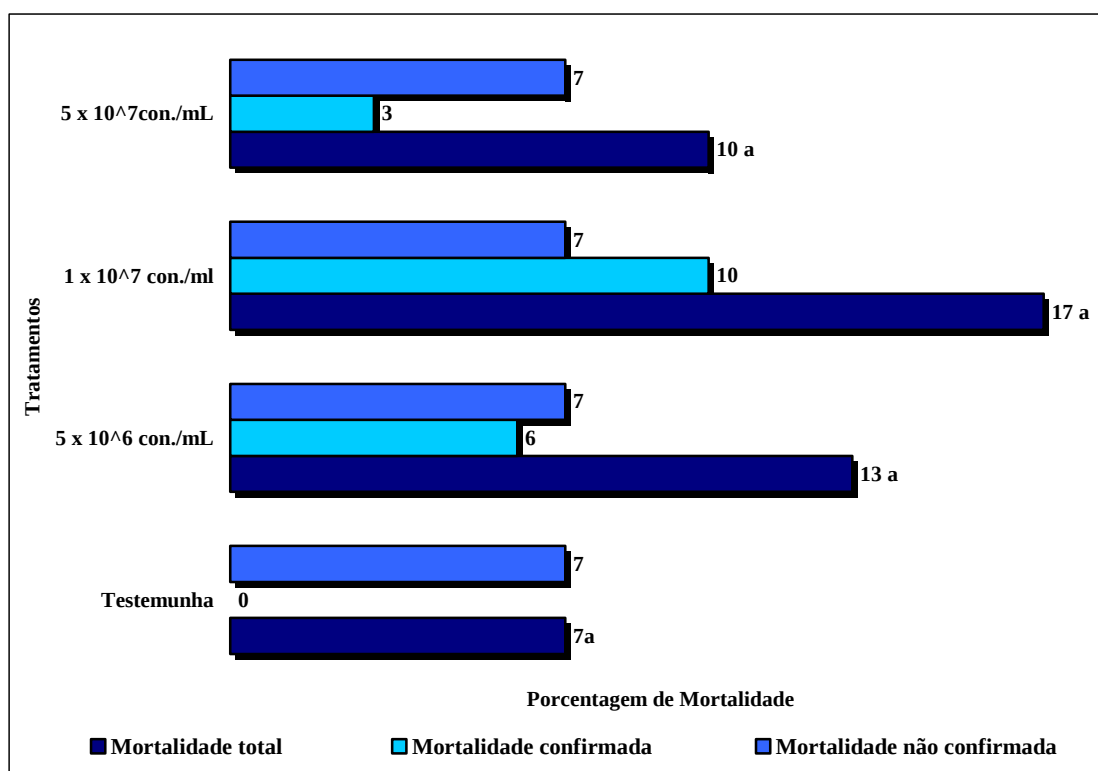


Figura 24. Mortalidade de *Neoseiulus californicus*, após 8 dias da pulverização com diferentes concentrações de conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, T=25,5 °C e fotofase de 12 horas (Teste F = 0,46^{n.s.} e C.V.(%)= 11,67).

O efeito de vários produtos químicos e biológicos sobre o ácaro predador *N. californicus* foi analisado Castagnoli et al. (2005). Os autores verificaram que *B. bassiana* provocou mortalidade de 60 % dos ovos do predador não sendo seletivo.

Pavlyushin e Smits (1996) avaliaram o efeito dos fungos *L. lecanii*, *B. bassiana* e *P. fumosoroseus* para os predadores *Chrysoperla carnea* e *C. nipponensis*. Os autores verificaram que nas concentrações $0,5 \times 10^7$ e $2,5 \times 10^7$ con./mL o efeito destes fungos foi pequeno pois a mortalidade foi de 4%. Já para a concentração de 1×10^8 con./mL a mortalidade alcançou 28% para *B. bassiana*.

Através da aplicação do método do filme seco, Generoso (2002), verificou que os isolados CG 149 de *B. bassiana* e JAB 12 de *P. fumosoroseus* foram seletivos e classificados como pouco nocivos para larvas de 1º e 2º instar de *Chrysoperla externa*, provocando um baixo índice de mortalidade, o que está de acordo com os resultados obtidos para o ácaro *N. californicus* neste trabalho. Cardoso (2004) também avaliou a seletividade de fungos entomopatogênicos a predadores e verificou que os isolados ARSEF 6430 de *L. lecanii* e E 9 de *M. anisopliae*, na concentração de $2,1 \times 10^7$ con./mL, foram seletivos para larvas de 1º instar de *Ceraeochrysa cincta*.

Segundo Quinlan (1988), *L. lecanii* pode ser utilizado em conjunto com o ácaro predador fitoseídeo, *Phytoseiulus persimilis*, pois foi verificado que não houve efeito do fungo na atividade do predador. Moraes e Delalibera Junior (1992) verificaram que também houve seletividade do fungo *Neozygites* sp. a ácaros predadores fitoseídeos permitindo a utilização conjunta para controle do ácaro verde da mandioca.

A seletividade de fungos entomopatogênicos ao predador *Orius insidiosus* foi avaliada por Loureiro (2001) e a autora verificou que *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* e *L. lecanii* foram patogênicos ao predador nas concentrações de 1×10^6 a 1×10^8 con./mL, sendo não seletivos.

Vázquez (2002), avaliando a seletividade de *B. bassiana* e *L. lecanii* ao parasitóide *Cotesia americanus*, verificou que estes fungos foram altamente patogênicos ao parasitóide com mortalidades acima de 80%, sendo que as mortes começaram a ser observadas entre o 3º e o 5º dia. Apesar de discordar em relação a patogenicidade de *L. lecanii* aos ácaros predadores o resultado deste trabalho está parcialmente de acordo com o obtido por este autor,

pois as mortes confirmadas de ácaros da espécie *N. californicus* pelo patógeno ocorreram a partir do 4º dia.

Pachón e Cotes (1997) avaliaram a influência de *L. lecanii* sobre a atividade parasítica de *Amitus fuscipennis*, um parasitóide de *Trialeurodes vaporariorum*, em estufa. O parasitóide foi introduzido imediatamente, 24, 48 e 72 horas após a aplicação do fungo. Foi verificado que imediatamente e após 24 horas os níveis de parasitismo foram de 20 e 10%, respectivamente, e após 48 e 72 horas este índice caiu para 0,5%. Isto pode ser explicado pelo fato de que as ninfas de *T. vaporariorum* infectadas por *L. lecanii* não se tornaram muito atrativas ao parasitóide, pois foram totalmente cobertas pelo fungo e isso pode ter impedido o reconhecimento da praga pelo parasitóide dificultando sua atividade parasítica. Entretanto, não foram encontrados adultos de *A. fuscipennis* infectados pelo fungo.

Kim et al. (2005) verificaram o impacto do isolado CS-625 de *L. lecanii* sobre o parasitóide de afídeos *Aphidius colemani*. Foi verificado que o uso combinado desses dois agentes é uma estratégia viável no manejo integrado de afídeos, mas a aplicação dos conídios do fungo poderia ser planejada para coincidir com os estágios de desenvolvimento mais avançados do parasitóide para conservar os mesmos dentro do sistema.

Mesquita et al. (1999) estudaram a atividade do parasitóide *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) expostos ao fungo *P. fumosoroseus* sob diferentes condições de umidade. Os autores verificaram que *P. fumosoroseus* pode ser antagonista de *A. asychis* sob condições de alta umidade (94 - 98%). Entretanto, o estudo também indicou que um alto grau de compatibilidade entre fungo e parasitóide é possível sob condições de umidades mais baixas.

O estudo de seletividade de um fungo entomopatogênico a outro inimigo natural é fundamental, pois analisa a possibilidade de uso simultâneo dos dois agentes de controle, podendo levar ao estabelecimento de métodos e intervalos de aplicação do fungo e liberação do predador ou parasitóide com a finalidade de que cada agente possa contribuir com sua ação no controle da praga alvo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo de uma grande diversidade de plantas ornamentais, o aumento nas vendas com exportações e a importância deste tipo de cultivo já é uma realidade brasileira. Entretanto, os problemas com o uso exagerado de agrotóxicos e a resistência das pragas têm aumentado cada vez mais e precisam ser resolvidos.

Através deste trabalho pôde ser observado que muitos estudos ainda devem ser feitos, como a realização de ensaios em plantios comerciais para o controle do ácaro rajado e do tripses com a utilização conjunta de ácaros predadores e fungos entomopatogênicos. Assim como, a avaliação do uso escalonado, a frequência e a ordem das aplicações entre agrotóxicos e entomopatógenos, objetivando uma utilização racional e eficiente que mantenha a praga em seu nível de controle. Vale ressaltar também que devem ser intensificados estudos entre a associação de nematóides e fungos entomopatogênicos, visto que várias pragas podem ser controladas por ambos agentes, como o sciarídeo.

Novas metodologias para a compatibilidade de agrotóxicos e fungos entomopatogênicos em estufa também devem ser estudadas, a fim de que, a mais adequada possa ser utilizada para a padronização dos ensaios.

A utilização do controle microbiano é viável e eficiente desde que, sejam respeitadas as condições básicas e necessárias de aplicação, para que haja um bom desenvolvimento e estabelecimento do entomopatógeno na área.

6. CONCLUSÕES

As concentrações avaliadas do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* são patogênicas ao ácaro rajado *Tetranychus urticae*.

Todos os fungicidas e o inseticida Thiodan nas duas dosagens utilizadas são tóxicos ao isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* e os demais produtos são compatíveis, em laboratório.

Os fungicidas Rovral e Alto 100 são compatíveis ao isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii*, em estufa, quando aplicados previamente ao fungo.

Os conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* produzidos em meio de cultura contendo inseticidas e acaricidas mantiveram a patogenicidade a *Tetranychus urticae*.

O isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* é compatível aos nematóides entomopatogênicos *Steinernema* sp. (CB n6) e *Heterorhabditis indica* (CB n5).

O isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* é seletivo aos ácaros predadores *Neoseiulus californicus* e *Neoseiulus barkeri*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILLERA, M. M. Nematóides do bem. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 25, p. 52-54, 2001.

ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; VAN LENTEREN, J. C.; ELAD, Y. **Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. 545p.

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

ALMEIDA, S.G. Crise socioambiental e conversão ecológica da agricultura brasileira. Rio de Janeiro: AS-PTA, 2001. p. 90-98.

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

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

ALVES, S. B.; LECUONA, R. G. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 97-169, 1998.

ALVES, S. B.; MOINO JR. A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 217-238, 1998.

ALVES, S. B.; TAMAI, M. A.; LOPES, R. B. Avaliação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para controle de *Tetranychus urticae* Koch em crisântemo. In: BRAZILIAN CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 17., 1998, Rio de Janeiro, **Abstracts...** Rio de Janeiro: 1998a, p. 1068.

ALVES, S. B.; ROSSI, L. S.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; PEREIRA, R. M. *Beauveria bassiana* yeast phase on Agar médium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v. 81, p. 70-77, 2002.

ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 463-467, 2004.

ANSARI, M. A.; TIRRY, L.; MOENS, M. Interaction between *Metarhizium anisopliae* CLO 53 and entomopathogenic nematodes for the control of *Hoplia philantus*. **Biological Control**, Orlando, v. 31, p. 172-180, 2004.

ARZONE, A.; MARLETTO, O. I. Patogenicità di tre deuteromiceti nei confronti di *Corythucha ciliata* (Heteroptera: Tingidae). **Redia**, Firenze, v. 67, p. 195-203, 1984.

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**, Londrina, v. 24, p. 405-408, 1995.

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

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

BENZ, G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. In: BURGESS, H. D.; HUSSEY, N. W. (Eds.), **Microbial control of insects and mites**. New York: Academic Press, 1971. p. 327-355.

BOMAN, H. G. Insect responses to microbial infections. In: BURGESS, H. D. (Ed.), **Microbial control of pest and plant diseases, 1970-1980**. New York: Academic Press, 1980. p. 769-784.

BRINKMAN, M. A.; GARDNER, W. A. Possible antagonistic activity of two entomopathogens infecting workers of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). **Journal Entomological Science**, Tifton, v. 35, p. 205-207, 2000.

BUSSOLA, R. A.; TAVARES, F. M.; GOULART, R. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; AMBROS, C. M. A. Avaliação do nematóide *Heterorhabditis* sp. em cultura de violetas contra larvas de *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae). In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 17., 2004, São Paulo, **Arquivos do Instituto Biológico, v.71 (supl.)**... São Paulo: 2004. Resumo 113.

BUSSOLA, R. A.; TAVARES, F. M.; GOULART, R. M.; LEITE, L. G.; CARREGARI, L. C.; AMBRÓS, C. M. G. Eficiência dos nematóides *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema feltiae* (Nematoda: Rhabditida) no controle da mosca fungus gnats, *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife, **Anais...** Recife: 2005. p. 117.

BUSSOLA, R. A.; WENZEL, I. M.; ALMEIDA, A. M. B.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M. et al. Eficiência de fungos entomopatogênicos no controle da mosca fungus gnats, *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife, **Anais...** Recife: 2005a. p. 97.

BUTT, T. M.; GOETTEL, M. S. Bioassays of entomogenous fungi. In: NAVON, A.; ASCHER, K. R. S. (Eds.). **Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes**. London: Cabi Publishing, p. 141-191. 2000.

CARDOSO, E. R. **Metodologia para avaliação em laboratório da seletividade de fungos entomopatogênicos para larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae)**. 2004. 50f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

CASTAGNOLI, M.; LIGUORI, M.; SIMONI, S.; DUSO, C. Toxicity of some insecticides to *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus californicus* and *Tydeus californicus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 50, p. 611-622, 2005.

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

CAVALCANTI, R. S.; MOINO JR, A.; SOUZA, G. C.; DUARTE, A. S. M. M. Seleção de colônias de *Beauveria bassiana* resistentes a produtos fitossanitários. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, v. 71, p. 21-27, 2004.

CHANDLER, D., HEALE, J. B., GILLESPIE, A.T. Competitive interaction between strains of *Verticillium lecanii* on two insect hosts. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 122, p. 435-440, 1993.

CINTRA, E. R. R. **Avaliação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o controle de *Fidicinoides pronoe* (Hemiptera: Cicadidae) e sua compatibilidade com produtos fitossanitários utilizados na cultura do café.** 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

CLARK, R. A.; CASAGRANDE, R. A.; WALLACE, D. B. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 11, n. 1, p. 67-70, 1982.

CHO, H. Y.; KAYA, H. K.; HUH, J.; LEE, D. W.; KIM, H. H.; LEE, S. M.; CHOO, Y. M. Entomopathogenic nematodes (*Steinernema* spp. and *Heterorhabditis bacteriophora*) and a fungus *Beauveria brongniartii* for biological control of the white grubs, *Ectinohoplia rufipes* and *Exomala orientalis*, in Korean golf courses. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 47, p. 177-192, 2002.

CLOID, R. **The entomopathogen *Verticillium lecanii*.** Disponível em: <<http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf612.html>>. Acesso em: 29 mar. 2005, 14:30:25.

COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS: Guia Prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. 5 ed. São Paulo: Andrei. 1999, 672p.

COLLIER, K. F. S.; EIRAS, A. E.; ALBUQUERQUE, G. S.; BLACKMER, J. L.; ARAÚJO, M. C.; MONTEIRO, L. M. Localização de presas à curta distância por *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): o papel dos aleloquímicos dos ácaros fitófagos *Panonychus ulmi* (Koch) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e da planta hospedeira, *Malus domestica* (Borkham). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 705-713, 2000.

DURÁN, J.; CARBALLO, M.; HIDALGO, E. Efecto de fungicidas sobre la germinación y el crecimiento de *Beauveria bassiana*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, v. 71, p. 73-78, 2004.

EHLERS, R. U. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. **Applied Microbiology Biotechnology**, Oxford, v. 56, p. 623-633, 2001.

ER, M. K.; GÖKÇE, A. Effects of selected pesticides used against glasshouse tomato pests on colony growth and conidial germination of *Paecilomyces fumosoroseus*. **Biological Control**, Orlando, v. 31, p. 398-404, 2004.

FAN, Y.; PETTIT, F. L. Biological control of broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), by *Neoseiulus barkeri* Hugues on pepper. **Biological Control**, Orlando, v. 4, p. 390-395, 1994.

FARGUES, J.; VIDAL, C.; SMITS, N.; ROUGIER, M.; BOULARD, T.; MERMIER, M.; NICOT, P.; REICH, P.; JEANNEQUIN, B.; RIDRAY, G.; LAGIER, J. Climatic factors on entomopathogenic hyphomycetes infection of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) in Mediterranean glasshouse tomato. **Biological Control**, Orlando, v. 28, p. 320-331, 2003.

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

FAVARO, R. M.; ZANOL, K. M. R.; SANTANA, D. L. Q.; LEITE, M. P. S.; CAMARGO, J. M. M. Infectividade de diferentes concentrações de conídios de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Gams & Zare sobre ovos e ninfas de *Glycaspis brinblecombei* (Moore, 1964), em laboratório. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife. **Anais...** Recife: 2005. p. 104.

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

FONTANA, C. F. Crisântemum. **Florarte Atualize**, Campinas, n. 1, 2005. p. 46.

FOURNIER, V., BRODEUR, J. Dose-response susceptibility of pest aphid (Homoptera: Aphididae) and their control on hydroponically grown lettuce with the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*, azadirachtin, and insecticide soap. **Environmental Entomology**, College Park, v. 29, n. 3, p. 568-578, 2000.

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

GARCÍA-MARÍ, F.; GONZÁLEZ-ZAMORA, J. E. Biological control of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with naturally occurring predators in strawberry plantings in Valencia, Spain. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 23, p. 487-495, 1999.

GARDNER, W. A.; STOREY, G. K. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 78, n. 6, p. 1275-1279, 1985.

GARDNER, W. A.; OETTING, R. D., STOREY, G. K. Scheduling of *Verticillium lecanii* and Benomyl applications to maintain aphid (Homoptera: Aphididae) control chrysanthemums in greenhouse. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 77, n. 2, p. 514-518, 1984.

GASSEN, M. H.; BATISTA FILHO, A.; ALVES, L. F. A.; SILVA, E. R. L. Compatibilidade de produtos fitossanitários com *Bacillus thuringiensis* na cana-de-açúcar, em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado. **Livro de Resumos...** Gramado: 2004. p. 269.

GASSEN, M. H.; ALMEIDA, J. E. M.; ZAPPELINI, L. O.; WENZEL, I. M.; ALMEIDA, A. M. B.; GIOMETTI, F. H. C.; BATISTA FILHO, A. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch em *Solidago canadensis*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife. **Anais...** Recife: 2005. p. 99.

GENEROSO, A. R. **Compatibilidade de *Beauveria bassiana* e *Paecilomyces fumosoroseus* com *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae).** 2002. 63f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GILLESPIE, A. T., CLAYDON, N. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. **Pesticide Science**, Oxford, v. 27, p. 203-215, 1989.

GOUGE, D. H.; HAGUE, N. G The development of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) in the sciarid fly *Bradysia paupera* (Diptera: Sciaridae). **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 126, p. 395-401, 1995.

GULLINO, M. L., ALBAJES, R., VAN LENTEREN, J. C. Characteristics of protected cultivation and tools for sustainable crop protection. In: ALBAJES, R. et al. (Eds.). **Integrated Pest Management in Greenhouse Crops.** Boston: Kluwer Academic, 1999, p. 1-15.

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

HARRIS, M. A.; OETTING, R. D.; GARDNER, W. A. Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. **Biological Control**, Orlando, v. 5, p. 412-418, 1995.

HELYER, N., WARDOLW, L. R. Aphid control on chrysanthemum using frequency, low dose applications of *Verticillium lecanii*. **Bulletin OILB SROP**, Digon Cedex, v. 10, p. 62-65, 1987.

HELYER, N., GILL, G., BYWATER, A., CHAMBERS, R. Elevated humidities for control of chrysanthemum pests with *Verticillium lecanii*. **Pesticide Science**, Oxford, v. 36, p. 373-378, 1992.

HELYER, N.; BROBYN, P. J.; RICHARDSON, P. N. Control of western flower thrips *Frankliniella occidentalis*, (Pergand) pupae in compost. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 129, p. 405-412, 1995.

IZQUIERDO J.; FORTUNY, J. Validación de metodologías en la evaluación toxicológica de plaguicidas sobre fauna benéfica. **Phytoma**, Paris, v. 92, p. 42-44, 1997.

JAGDALE, G. B.; CASEY, M. L.; GREWAL, P. S.; LINDQUIST, R. K. Application rate and timing, potting medium, and host plant effects on the efficacy of *Steinernema feltiae* against the fungus gnat, *Bradysia coprophila*, in floriculture. **Biological Control**, Orlando, v. 29, p. 96-305, 2004.

JAQUES, R. P.; MORRIS, O. N. Compatibility of pathogens with other methods of pest control and with different crops. In: BURGESS, H. D. (Ed.) **Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980**. London: Academic Press, 1981. p. 695-715.

JEPPSON, L. R.; KEIFER, H.H.; BAKER, E. W. **Mites injurious to economic plants**. Berkeley: University of California Press, 1975. p. 458.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Exportações recordes. **Florarte Atualize**, Campinas, n. 1, p. 23, 2005.

KAYA, H. K. Natural enemies and other antagonists. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**. New York: CABI, 2002. p. 189-204.

KIM, J. J.; LEE, M. H.; YOON, C.; KIM, H.; YOO, J.; KIM, K. et al. Control of cotton aphid and greenhouse whitefly with fungal pathogens. **Food and Fertilizer Technology Center**. 2001. Disponível em: <<http://www.ffc.agnet.org/library/article/eb502b.html>>. Acesso em: 12 ago 2004.

KIM, J. J.; KIM, K. C.; ROBERTS, D. W. Impact of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* on development of an aphid parasitoid, *Aphidius colemani*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v. 88, p. 254-256, 2005.

KIM, S. S.; PAIK, C. H. Comparative toxicity of abamectin to spider mites, *Tetranychus urticae* Koch and *T. kanzawai* Kishida (Acarina: Tetranychidae) and the predatory mite, *Amblyseius womersleyi* (Acarina: Phytoseidae). **Korean Journal of Applied Entomology**, Suwon, v. 35, p. 164-172, 1996.

KIM, S. S.; YOO, S.S. Comparative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and the twospotted mite, *Tetranychus urticae*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 47, p. 563-573, 2002.

KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to white grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 91, p. 618-623, 1998.

KOPPENHÖFER, A. M.; CHOO, H. Y.; KAYA, H. K.; LEE, D. W.; GELERNTER, W. D. Increased field and greenhouse efficacy against scarab grubs with a combination of an entomopathogenic nematode and *Bacillus thuringiensis*. **Biological Control**, Orlando, v. 14, p. 37-44, 1999.

LEITE, L. G.; ZENI, G. F. M.; MINEIRO, J. L. C.; RAGA, A.; HUMBER, R. A.; TAVARES, F. M. Virulência de *Lecanicillium muscarium* na forma de conídio e blastosporo contra o ácaro rajado, *Tetranychus urticae*. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 17, 2004, São Paulo, **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, (supl.)... São Paulo: 2004. Resumo 158.

LEITE, L. G., MACHADO, L. A., AMBRÓS, C. M. G. Nematóides contra insetos. **Cultivar**, Pelotas, v. 64, 2004a.

LOUREIRO, E. S. **Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com outros produtos fitossanitários e sua interação com *Myzus persicae* (Sulzer, 1776), *Aphis gossypii* (Glover, 1877) (Hemiptera: Aphididae) e *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Hemiptera: Anthocoridae).** 2001, 121f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LOUREIRO, E. S.; MOINO JR., A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 263-269, 2002.

LOUREIRO, E. S., OLIVEIRA, N. C.; WILCKEN, C. F.; BATISTA FILHO, A. Patogenicidade de *Verticillium lecanii* ao pulgão-do-pinus. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 5, p. 765-770, 2004.

LOURENÇÃO, A. L.; MIRANDA, M. A. C.; ALVES, S. B. Ocorrência epizootica de *Verticillium lecanii* em *Bemisia tabaci* Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) no estado do Maranhão. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 183-185, 2001.

MAGALHÃES, B. P., MONNERAT, R., ALVES, S. B. Interações entre entomopatógenos, parasitóides e predadores. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2.ed. Piracicaba: Fealq, 1998., p. 195-216.

MC MURTRY, J. A. Augmentative releases to control mites in agriculture. In: DUSBABEK, E., BUKVA, V. (Eds.). **Modern Acarology**. Hague: Academia, Praga & SPB Academic Publishing, v. 1, 1991, p. 151-157,

MESQUITA, A. L. M.; LACEY, L. A.; CEIANU, C. S.; DABIRE, R. Predatory and parasitic activity of *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) following exposure to the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) under different humidity regimes. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 661-673, 1999.

MILNER, R. J. Prospects for biopesticides for aphid control. **Entomophaga**, Paris, v. 42, n. 2., p. 227-239, 1997.

MILNER, R. J., LUTTON, G. G. Dependence of *Verticillium lecanii* (Fungi: Hyphomycetes) on high humidities for infection and sporulation using *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) as host. **Environmental Entomology**, College Park, v. 15, n. 2, p. 380-382, 1986.

MORAES, G. J. Controle biológico de ácaros fitófagos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 15, n. 167, p. 55-62, 1991.

MORAES, G. J., MC MURTRY, J. A. Suitability of the spider mite *Tetranychus evansi* as prey for *Phytoseiulus persimilis*. **Entomologia Experimentalis Applicata**, Dordrecht, v. 40, p. 109-115, 1986.

MORAES, G. J., DELALIBERA JUNIOR, I. Specificity of a strain of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) to *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 14, p. 89-94, 1992.

MORAES, G. J.; MCMURTRY, J. A.; DENMARK, H. A. **A catalog of the mite family Phytoseiidae: references to taxonomy, synonymy, distribution and habitat**. Brasília: Embrapa Departamento de Difusão de Tecnologia, 1986, 353 p.

MORRIS, O.N. Compatibility of 27 chemicals insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Canadian Entomologist**, v. 109, p. 855-864, 1977.

MORRIS, M. A., BERRY, R. E., CROFT, B. A. Phytoseiid mites on peppermint and effectiveness of *Neoseiulus fallacies* to control *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) in arid growing regions. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, n. 5, p. 1072-1078, 1999.

MUIÑO, B. L.; LARRINAGA, L. Efecto de los plaguicidas sobre *Verticillium lecanii*. **Fitosanidad**, Havana, v. 2, n. 1-2, p. 33-35, 1998.

NEGRISOLI JUNIOR, A. S. **Avaliação de técnicas para estudos de compatibilidade de produtos fitossanitários com nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae)**. 2005. 79f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

NILSSON, U.; GRIPWALL, E. Influence of the technique on the viability of the biological controls agents *Verticillium lecanii* and *Steinernema feltiae*. **Crop Protection**, Guilford, v. 18, p. 53-59, 1999.

NISHIMATSU, T., JACKSON, J. J. Interaction of insecticides, entomopathogenic nematodes, and larvae of the western corn rootworm (Coleoptera: Crhysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 91, n. 2, p. 410-418, 1998.

OLIVEIRA, C. N., NEVES, P. M. O. J., KAWAZOE, L. S. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 663-667, 2003.

OLMERT, I.; KENNETH, R. G. Sensitivity of the entomopathogenic fungi *beauveria bassiana*, *V. lecanii* and *Verticillium* spp. to fungicides and insecticides. **Environmental Entomology**, College Park, v. 3, n. 1, p. 33-38, 1974.

PACHON, M. D. B.; COTES, A. M. P. Efecto de *Verticillium lecanii* entomopat6geno de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* sobre la actividad paras6tica de *Amitus fuscipennis* en un cultivo de fr6jol. **Revista Colombiana de Entomologia**, Santaf6 de Bogot6, v. 23, n. 3-4, p. 171-175, 1997.

PAVLYUSHIN, V. A.; SMITS, P. H. Effect of entomopathogenic fungi on entomophagus arthropods. Insects pathogens and insect parasitic nematodes. Proceedings of the first joint meeting. **Bulletin OILB SROP**, Digon Cedex, v. 19, n. 9, p. 247-249, 1996.

POINAR JR., G.O. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Eds.). **Entomopathogenic nematodes in biological control**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 23-62.

POPRAWSKI, T. J.; MAJCHROWICZ. Effects of herbicides on in vitro vegetative growth and sporulation of entomopathogenic fungi. **Crop Protection**, Guilford, v. 14, n. 1, p. 81-87, 1995.

QUINLAN, R. J. Use of fungi to control insects in glasshouses. In: BURGE, M. N. (Ed.), **Fungi in biological control**. Manchester: Manchester University Press, 1988. p. 26-36.

RANGEL, D. E. N.; CORREIA, A. C. B. Virul6ncia de *Aphanocladium album* (Preuss) Gams e *Verticillium lecanii* (Zimm.) Vi6gas (Deuteromycotina: Hyphomycetes) para o percevejo-de-renda da seringueira, *Leptopharsa heveae* (Drake & Poor) (Hemiptera: Tingidae). **Ci6ncia Agrot6cnica**, Lavras, edi76o especial, p. 1636-1642, 2003.

REIMER, N. J.; BEARDSLEY, J. W. Epizootic of white halo fungus, *Verticillium lecanii* (Zimmerman), and effectiveness of insecticides on *Coccus viridis* (Green) (Homoptera: Coccidae) on coffee at Kona, Hawaii. **Proceedings, Hawaiian Entomological Society**, Hawaii, v. 31, p. 73-81, 1992.

ROVESTI, L.; HEINZPETER, W.; TAGLIENTE, F.; DESEÖ, K. V. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). **Nematologica**, Leiden, v. 34, p. 462-476, 1988.

ROY, E. H., PELL, J. K. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: Implications for biological control. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 10, p. 737-752, 2000.

SALAMA, H. S.; ABD-ELGAWAD, M. Activity of heterorhabditid nematodes at high temperature and in combination with cytoplasmatic polyhedrosis virus. **Journal of Pesticide Science**, Tokio, v. 75, p. 78-80, 2002.

SATO, M. E.; SILVA, M.; GONÇALVES, L. R.; SOUZA FILHO, M. F.; RAGA, A. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 449-456, 2002.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; JACKSON, M.; REILLY, C. C.; HOTCHKISS, M. W. Effects of combining an entomopathogenic fungi or bacterium with entomopathogenic nematodes on mortality of *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae). **Biological Control**, Orlando, v. 30, p. 119-126, 2004.

SHI, W.; FENG, M. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. **Biological Control**, Orlando, v. 30, p. 165-173, 2004.

SKIRVIN, D. J.; WILLIAMS, M. C. Differential effects of plant species on a mite pest (*Tetranychus urticae*) and its predator (*Phytoseiulus persimilis*): implications for biological control. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 23, p. 497-512, 1999.

STOREY, G. K.; GARDNER, W. A. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* to selected plant growth regulators and spray additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 52, n. 1, p. 1-3, 1986.

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. 75f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

TAKAFUJI, A.; OZAWA, A.; NEMOTO, H.; GOTOH, T. Spider mites in Japan: their biology and control. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, p. 319-335, 2000.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; NEVES, P. S. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ao ácaro *Tetranychus urticae* Koch. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, p. 285-288, 1999.

TAMAI, M. A. **Controle de *Tetranychus urticae* Koch com fungos entomopatogênicos**. 2002. 144f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; FAION, M.; PADULLA, L. F. L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 89-96, 2002.

TANADA, Y.; KAYA, H. K. Fungal Infections. In: TANADA, Y.; KAYA, H. K. (Eds.), **Insect Pathology**. San Diego: Academic Press, 1992. p. 318-387.

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

TRAMA, M.; ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C. Compatibilidade dos inseticidas e fungicidas utilizados no controle de pragas do cafeeiro aos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Verticillium lecanii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, 2001. Supl. Resumo 36

VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* sp. **IOBC/WPRS Bulletin**, Zurich, v. 15, p. 145-147, 1992.

VAN DER GEEST, L. P. S.; ELLIOT, S. L.; BREEUWER, J. A. J.; BEERLING, E. A. M. Diseases of mites. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, p. 495-560, 2000.

VAN DER SCHAAF, D. A., MALAIS, M., RAVENSBERG, W. J. The use of *V. lecanii* against whitefly and thrips in glasshouse vegetables in the Netherlands. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Adelaide. **Proceedings...** Adelaide, 1990. p. 391.

VAN LENTEREN, J. C. A greenhouse without pesticides: factor or fantasy? **Crop Protection**, Guilford, v. 19, p. 375-384, 2000.

VÁZQUEZ, L. L. Efecto de *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre *Cotesia americanus* (Lepeletier) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de larvas de la primavera de la yuca (*Erinnyis ello* L.). **Fitosanidad**, v. 6, n. 1, p. 25-27, 2002.

WANG, L.; HUANG, J.; YOU, M.; LIU, B. Time-dose-mortality modeling and virulence indices for six strains of *Verticillium lecanii* against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). **Journal of Applied Biology**, Suwon, v. 128, n. 7, p. 494-500, 2004.

WATANABE, M. A.; MORAES, G. J.; GASTALDO JR, I., NICOLELLA, G. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, p. 75-81, 1994.

WENZEL, I. M.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, A. M. B.; MINEIRO, J. L. C. Efeito de produtos fitossanitários sobre o desenvolvimento e patogenicidade do fungo entomopatogênico *Lecanicillium lecanii*. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 17., 2004, São Paulo, **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71 (supl.)... São Paulo: 2004. Resumo 131.

WILDING, N. The effect of systemic fungicides on the aphid pathogen, *Cephalosporium aphidicola*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 137-139, 1972.

YEO, H.; PELL, J. K.; ALDERSON, 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**, Sussex, p. 156-165, 2003.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; LOPES, C. A.; VALE, F. X. R. Doenças das hortaliças em cultivo protegido. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 200/201, p. 114-125, 1999.

ZARE, R.; GAMS, W. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. **Nova Hedwigia**, Stuttgart, v. 73, n. 1-2, p. 1-50, 2001.