

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS BOTUCATU

PATOGENICIDADE DE FUNGOS A MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS E

COMPATIBILIDADE ENTRE AGROTÓXICOS E *Purpureocillium*

lilacinum

FABÍOLA RODRIGUES MEDEIROS

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia
(Proteção de Plantas)

BOTUCATU – SP

Maio – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS BOTUCATU

**PATOGENICIDADE DE FUNGOS A MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS E
COMPATIBILIDADE ENTRE AGROTÓXICOS E *Purpureocillium***

lilacinum

FABÍOLA RODRIGUES MEDEIROS

Orientador: Antonio Batista Filho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia
(Proteção de Plantas)

BOTUCATU – SP

Maio – 2016

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

M488p Medeiros, Fabíola Rodrigues, 1981-
Patogenicidade de fungos a mosca-negra-dos-citros e compatibilidade entre agrotóxicos e *Purpureocillium lilacinum* / Fabíola Rodrigues Medeiros. - Botucatu : [s.n.], 2016
viii, 76 f. : fots. color., grafs., tabs.

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

1. Frutas cítricas - Doenças e pragas. 2. Fungos nematófagos. 3. Mosca - Controle integrado. 4. Pragas agrícolas - Controle biológico. I. Batista Filho, Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PATOGENICIDADE DE FUNGOS A MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS E
COMPATIBILIDADE ENTRE AGROTÓXICOS E *Purpureocillium lilacinum*

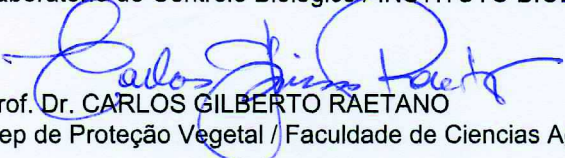
AUTORA: FABÍOLA RODRIGUES MEDEIROS

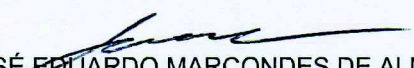
ORIENTADOR: ANTONIO BATISTA FILHO

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


Dr. ANTONIO BATISTA FILHO
Laboratório de Controle Biológico / INSTITUTO BIOLÓGICO


DR. LUIS GARRIGÓS LEITE
Laboratório de Controle Biológico / INSTITUTO BIOLÓGICO


Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronomicas de Botucatu


DR. JOSÉ EDUARDO MARCONDES DE ALMEIDA
Centro Experimental do Instituto Biológico de Campinas / INSTITUTO BIOLÓGICO


Prof. Dr. ADALTON RAGA
Instituto Biológico- Laboratório de Entomologia - Campinas/SP

Botucatu, 31 de maio de 2016

“Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar aonde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz.”

Bill Gates

“Se alguém quiser ser o primeiro, seja o último de todos, aquele que serve a todos!”

(Marcos 9, 35)

OFEREÇO

A minha avó (in memoriam), que mesmo ausente fisicamente, é presença constante em espírito e nos ensinamentos consolidados em minhas ações.

À professora e amiga, Dra. Raimunda Nonata Santos de Lemos, parte fundamental dessa importante jornada e conquista, pela sua paciência e empenho, meu eterno agradecimento.

DEDICO

A Deus, por guiar meus passos e abençoá-los.

A minha mãe, que tudo fez por mim, obrigada pela lição de amor que me ensinou durante toda a vida.

Aos meus familiares, que sempre confiaram, incentivaram e acreditaram nesta grande vitória. Em especial, aos meus tios, José de Ribamar, Leonir Maria e Helena Lucimar e primos, Adriano Rodrigues e Wellington Rodrigues.

AGRADECIMENTOS

A DEUS meu mais fiel companheiro, que esteve comigo em cada momento, minha fonte de inspiração. Obrigada, Senhor, pela tua infinita presença.

Ao meu orientador Antonio Batista Filho, pela orientação, apoio e atenção durante o desenvolvimento da tese.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa durante o curso.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas, pelos ensinamentos.

Ao Instituto Biológico (IB), pela cedência dos entomopatógenos.

À Universidade Estadual do Maranhão, pela estrutura cedida na execução dos trabalhos.

À Profa. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues e ao Prof. Dr. José de Ribamar Gusmão, pela oportunidade de desenvolver em conjunto esta pesquisa, pela inesgotável troca de conhecimentos e empenho para realização deste trabalho.

À Dra. Janaina Mondego, pela ajuda nas coletas, montagem dos experimentos e correções do trabalho. Pelo companheirismo, me animando sempre quando as avaliações pareciam nunca acabar.

À doutoranda Geisa Mayana, da Universidade Federal da Paraíba, pela colaboração nos experimentos de compatibilidade.

Ao prof. Dr. Gilson Soares, pela companhia, conselhos e por nossas longas conversas nos corredores da universidade.

Às amigas de Botucatu, Mariana Sales, Evelynne Urzêdo Leão, Gabriela Santa Rosa, Simone Velozo, Adelana Santos, Tais Dadázio e Ana Paula Ferreira pela convivência, apoio e descontração. Vocês tornaram minha jornada mais suave e alegre. A amizade continuará, além dos limites geográficos.

Às amigas Hayla Devanne, Marta Arruda, Maria de Jesus, Nenna Bastos e Yannick Pinheiro que, mesmo longe, ajudaram para que esse trabalho se concretizasse.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia da Universidade Estadual do Maranhão, Keneson Machado, Elizabeth Araújo, Leonardo de Jesus Góes pela ajuda dada em todo o trabalho, pelo companheirismo, amizade e por todos os momentos agradáveis que me proporcionaram.

Aos pesquisadores, Dr. Angelo Luiz Tadeu Ottati (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MA) e Dr. José Eduardo Marcondes (Instituto Biológico, Campinas), que sempre estiveram dispostos a ajudar e responder aos meus questionamentos. Por suas contribuições nas análises dos dados dessa tese.

Ao pesquisador, Ricardo Harakava (Instituto Biológico, São Paulo), pela identificação molecular dos fungos analisados.

Aos membros da banca avaliadora, pela extensiva revisão e contribuição.

A todos que direta ou indiretamente estiveram ao meu lado nessa conquista. Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	01
SUMMARY.....	03
1 INTRODUÇÃO.....	05
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	08
2.1 Citricultura no Brasil.....	08
2.2 Mosca-negra-dos-citros.....	09
2.2.1 Classificação taxonômica, origem e distribuição de <i>Aleurocanthus woglumi</i> (Ashby, 1915).....	09
2.2.2 Aspectos bioecológicos.....	10
2.2.3 Principais hospedeiros, dispersão, danos e importância econômica.....	12
2.2.4 Métodos de controle.....	14
2.2.4.1 Controle cultural.....	14
2.2.4.2 Controle químico.....	14
2.2.4.3 Controle alternativo.....	15
2.2.4.4 Controle biológico.....	15
2.3 Fungos entomopatogênicos.....	16
2.3.1 Modo de ação.....	17
2.3.2 Espécies de fungos entomopatogênicos.....	18
2.4 Compatibilidade entre entomopatógenos e agrotóxicos.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 Obtenção dos fungos.....	27
3.2 Preparo das suspensões.....	29
3.3. Patogenicidade dos isolados de <i>Beauveria bassiana</i> (IBCB 66), <i>Metarhizium anisopliae</i> (IBCB 425), <i>Lecanicillium muscarium</i> (IBCB 537), <i>Fusarium proliferatum</i> (MGSS 61) e <i>Purpureocillium lilacinum</i> (MGSS 136) sobre ninfas de <i>Aleurocanthus woglumi</i> em laboratório.....	30
3.4 Estimativa da concentração letal 50 (CL ₅₀) e do tempo letal médio 50 (TL ₅₀) do fungo <i>Purpureocillium lilacinum</i> (MGSS 136).....	33

3.5	Compatibilidade de agrotóxicos utilizados na citricultura sobre o fungo entomopatogênico <i>Purpureocillium lilacinum</i> (MGSS 136) em condições de laboratório e semicampo.....	35
3.5.1	Avaliação em condições de laboratório.....	35
3.5.2	Avaliação em condições de semicampo.....	38
3.6	Dados climáticos.....	39
3.7	Análise dos dados.....	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1.	Patogenicidade dos isolados de <i>Beauveria bassiana</i> (IBCB 66), <i>Metarhizium anisopliae</i> (IBCB 425), <i>Lecanicillium muscarium</i> (IBCB 537), <i>Fusarium proliferatum</i> (MGSS 61) e <i>Purpureocillium lilacinum</i> (MGSS 136) sobre ninfas de <i>Aleurocanthus woglumi</i> em laboratório.....	42
4.2	Estimativa da concentração letal 50 (CL ₅₀) e do tempo letal médio 50 (TL ₅₀) do fungo <i>Purpureocillium lilacinum</i> (MGSS 136).....	46
4.3	Compatibilidade de agrotóxicos utilizados na citricultura sobre o fungo entomopatogênico <i>Purpureocillium lilacinum</i> (MGSS 136) em condições de laboratório e semicampo.....	49
4.3.1	Avaliação em condições de laboratório.....	49
4.3.2	Avaliação em condições de semicampo.....	55
5	CONCLUSÕES.....	60
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

PATOGENICIDADE DE FUNGOS A MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS E COMPATIBILIDADE ENTRE AGROTÓXICOS E *Purpureocillium lilacinum*

AUTOR: Fabíola Rodrigues Medeiros

ORIENTADOR: Antonio Batista Filho

RESUMO

A mosca-negra-dos-citros constitui-se uma ameaça à fruticultura, por ser uma praga com grande potencial de dano econômico. O objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade e virulência de isolados de fungos entomopatogênicos sobre a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) em condições de laboratório, e o efeito de diferentes produtos fitossanitários sobre o desenvolvimento do fungo *Purpureocillium lilacinum* *in vitro* e semicampo. No teste de patogenicidade, foram utilizadas dez ninfas de segundo e terceiro ínstaes de *Aleurocanthus woglumi* e os fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium*, *Fusarium proliferatum* e *Purpureocillium lilacinum*. Para determinação da concentração letal 50 (CL₅₀) e do tempo letal médio 50 (TL₅₀) foi escolhido o fungo *P. lilacinum*, sendo cada tratamento representado por uma concentração 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL. Nos testes de compatibilidade de agrotóxicos sobre o fungo *P. lilacinum*, foram testados os produtos Ampligo® (clorantraniliprole + lambda-cialotrina), Kohinor 200 SC® (imidacloprido), Provado 200 SC® (imidacloprido), Recop® (oxicloreto de cobre), Iharol® (óleo mineral), Talstar 100 EC® (bifentrina), Stimulate® (ácido 4-indol-3-ilbutírico + ácido giberélico + cinetina) e Neenmax® (azadiractina), nas doses recomendadas para campo. No experimento em casa de vegetação, mudas de limão Cravo foram pulverizadas com os produtos e o patógeno *P. lilacinum* ($4,76 \times 10^7$ conídios/mL) de três formas diferentes, primeiramente os agrotóxicos e depois o fungo; primeiro o fungo e posteriormente o agrotóxico e os dois simultaneamente. As mudas foram mantidas em estufa telada, e, após as pulverizações, 24, 48 e 72 horas, foi feita a contagem de colônias para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC). Em relação aos testes de patogenicidade e virulência, concluiu-se que os isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. muscarium*, *F. proliferatum* e *P. lilacinum* foram

patogênicos às ninfas de *A. woglumi* e que as concentrações avaliadas do fungo *P. lilacinum* foram patogênicas às ninfas *A. woglumi*. Nos testes de compatibilidade os agrotóxicos Ampligo, Kohinor 200 SC, Provado 200 SC, Talstar 100 EC, Stimulate e Neenmax, sob condições laboratoriais, foram compatíveis com *P. lilacinum* e os produtos Recop e Iharol foram considerados moderadamente tóxicos. Em condições de semicampo, o fungo *P. lilacinum* não foi afetado pelos produtos, independentemente do tempo de coleta e da forma como foram aplicados.

Palavras-chave: *Aleurocanthus woglumi*, fungos entomopatogênicos, seletividade.

PATHOGENICITY FUNGI CITRUS BLACKFLY AND COMPATIBILITY OF PESTICIDES AND *Purpureocillium lilacinum*.

Botucatu, 2016. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: Fabíola Rodrigues Medeiros

Advisor: Antonio Batista Filho

SUMMARY

Citrus blackfly is a threat to fruit, to be a plague with great potential for economic damage. The objective this study was to evaluate the pathogenicity and virulence of entomopathogenic fungi on citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) under laboratory conditions, and effect of different pesticides on the development of fungus *Purpureocillium lilacinum* *in vitro* and greenhouse. In pathogenicity test were used ten nymphs second and third instars of *Aleurocanthus woglumi* and fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium*, *Fusarium proliferatum* and *Purpureocillium lilacinum*. To determine the lethal concentration 50 (CL₅₀) and median lethal time 50 (TL₅₀) the fungus *P. lilacinum* was chosen, each treatment represented by a concentration 1 x 10⁶, 5 x 10⁶, 1 x 10⁷, 5 x 10⁷, 1 x 10⁸ and 5 x 10⁸ conidia/mL. In compatibility tests the fungus *P. lilacinum* were tested products, Ampligo® (clorantiraniliprole + lambda-cyhalothrin), Kohinor® (imidacloprid), Provado® (imidacloprid), Recop® (copper oxychloride), Iharol® (oil mineral), Talstar® (bifenthrin), Stimulate® (indole butyric acid + gibberellic acid + kinetin) e Neenmax® (azadirachtin), the recommended dose for field. The experiment in greenhouse, rangpur lemon seedlings were sprayed with the products and the pathogen *P. lilacinum* (4,76 x 10⁷ conidia/mL) in three different ways, first the pesticide and then the fungus; first the fungus and then the pesticide and the two simultaneously. Seedlings were kept in screened greenhouse, and after spraying, 24, 48 and 72 hours, the colony count was done to determine the number of colony forming units (CFU). With respect to pathogenicity and virulence tests, it was concluded that the isolates of *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. muscarium*, *F. proliferatum* and *P. lilacinum* were pathogenic to nymphs of *A. woglumi* and the evaluated concentrations of the fungus *P. lilacinum* were

pathogenic to nymphs. In compatibility tests Ampligo, Kohinor, Provado, Talstar, Stimulate e Neenmax under laboratory conditions, they were compatible with *P. lilacinum* and Recop and Iharol products were moderately toxic. In greenhouse conditions, the fungus *P. lilacinum* was not affected by the products regardless of the time of collection and the way they were applied.

Keywords: *Aleurocanthus woglumi*, entomopathogenic fungi, selectivity.

1 INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira apresenta números expressivos que traduzem a grande importância econômica e social que a atividade tem para a economia do país. Segundo o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2015), o Brasil é o líder mundial de produção de citros e de exportação de suco de laranja concentrado congelado. A citricultura representa um setor altamente organizado e competitivo, e é considerada uma das mais destacadas agroindústrias brasileiras. Dentre os estados da federação, São Paulo é o que abriga o maior parque citrícola, considerado também um dos maiores do mundo. Apontada como motivo de orgulho para o país, a cadeia dos citros traz, por meio das exportações bilhões de dólares à economia (NEVES et al., 2011; ZULIAN, DÖRR e ALMEIDA, 2013).

A agroindústria sempre teve por objetivo atingir níveis elevados de produtividade. Para conseguir essa missão, os agricultores necessitam conter as pragas que arrasam as plantações e diminuir a utilização de agrotóxicos, uma vez que isso vem causando sérios danos ao ambiente e à saúde da população, devido à possibilidade de contaminação direta da aplicação, bem como à contaminação indireta das águas e alimentos que se ingere (SANTOS, 2014).

Os citros, assim como as demais plantas frutíferas, são suscetíveis a diversos insetos-praga. Neste cenário, a mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus*

woglumi (Ashby, 1915) (Hemiptera: Aleyrodidae) constitui-se uma ameaça à fruticultura, por ser uma praga com grande potencial de dano econômico. Este inseto ataca as principais espécies frutíferas brasileiras, ocasionando danos diretos (sucção de seiva) e indiretos (desenvolvimento de fumagina), diminuindo, assim, a respiração e a fotossíntese da planta, comprometendo a produção e a qualidade do fruto (MELLO e MAIA, 2008).

Para o desenvolvimento de estratégias de manejo eficientes da mosca-negra, é necessária a integração de produtos fitossanitários com o controle biológico, com a disponibilização de produtos eficientes e seletivos aos seus inimigos naturais. Dentre os inimigos naturais que são diretamente prejudicados estão os entomopatógenos, como os fungos, pois os agrotóxicos podem afetar o crescimento vegetativo, a viabilidade e a conidiogênese destes agentes, ou até alterar sua composição genética, acarretando modificações na sua virulência (PRATISSOLI et al., 2011; BATISTA FILHO et al., 2003).

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

No Manejo Integrado de Pragas, a preservação de inimigos naturais tem sido uma das práticas de maior importância. Neste sentido, a aplicação de agrotóxicos de alta toxicidade e de largo espectro estão sendo reconhecidos como a principal causa de desequilíbrios biológicos nos agroecossistemas, assim, a utilização de compostos seletivos é de grande importância para retardar ou mesmo evitar problemas, tais como, ressurgência de pragas, seleção de insetos resistentes e extinção de determinadas espécies fundamentais para o equilíbrio da região.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade e virulência de isolados de fungos entomopatogênicos sobre a mosca-negra-dos-citros em condições de laboratório, e o efeito de diferentes produtos

fitossanitários sobre o desenvolvimento do fungo *Purpureocillium lilacinum* *in vitro* e semicampo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Citricultura no Brasil

A citricultura vem ganhando cada vez mais espaço no agronegócio brasileiro com a ampliação do mercado e o aprimoramento da atividade. Sua importância vai além da geração de divisas para a economia brasileira, o setor tem grande impacto na criação de empregos, formação de capital, geração de renda, agregação de valor e no desenvolvimento regional (ZULIAN, DÖRR e ALMEIDA, 2013).

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas seguido por Estados Unidos, China, Índia, México, Egito e Espanha e concomitantemente maior exportador de suco de laranja. No ano de 2015, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística a estimativa da safra para o país foi em torno de 16 milhões de toneladas da fruta. A produção de citros ocorre principalmente no Estado de São Paulo, onde encontram-se cerca de 85% da produção brasileira de laranjas (10.193.794 toneladas, 431.931 hectares). Outros estados como Bahia, Minas Gerais, Pará, Paraná e Rio Grande do Sul contribuem para o agronegócio dos citros com a produção, principalmente, de laranjas, tangerinas e limões (BRASIL, 2015).

Na região Nordeste, destacam-se os estados da Bahia (985.650 toneladas) e Sergipe (590.520 toneladas). Já o Maranhão representa o 5º lugar, com uma

produção de aproximadamente 6.000 toneladas. A citricultura nordestina tem grande potencial para implementar seu crescimento, sobretudo em função da ausência de doenças e pragas de grande importância (BRASIL, 2015).

A citricultura está suscetível a mudanças climáticas, bem como ao ataque de pragas e doenças, que interferem na produção, no preço de mercado e, conseqüentemente, em todo andamento da atividade. A ocorrência de anos consecutivos de secas, associados à ocorrência de doenças graves tais como, o declínio, em 1970; morte súbita, em 1999; e o “*huanglongbing*”, em 2004, além de inúmeros ácaros e insetos-pragas foram responsáveis pela erradicação de milhões de árvores. Diante da representatividade do setor, o aspecto fitossanitário como um todo se destaca como um desafio para o produtor (MELLO e MAIA, 2008).

A produção de citros está sendo comprometida pela ocorrência do “*huanglongbing*” ou HLB que é considerada a doença mais problemática atualmente, além de outras pragas como o ácaro-da-leprose, *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae); ácaro-da-ferrugem, *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead, 1979) (Acari: Eriophyidae); ácaro púrpureo, *Panonychus citri* (McGregor, 1916) (Acari: Tetranychidae); cochonilha ortézia, *Praelongorthezia praelonga* (Douglas, 1891) (Hemiptera: Ortheziidae); pulgão preto, *Toxoptera citricida* (Kirkakdy, 1907) (Hemiptera: Aphididae); mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* (Ashby, 1915) (Hemiptera: Aleyrodidae); moscas-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824), *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) e *Neosilba* spp. (Diptera), entre outras espécies (FUNDECITRUS, 2015). Neste cenário, novas alternativas devem ser estudadas com finalidade de reduzir o custo da produção para a cultura dos citros.

2.2 Mosca-negra-dos-citros

2.2.1 Classificação taxonômica, origem e distribuição geográfica de *Aleurocanthus woglumi* (Ashby, 1915)

A mosca-negra-dos-citros é um inseto da ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha, família Aleyrodidae, gênero *Aleurocanthus* (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001)

É uma praga de origem asiática (NGUYEN e HAMON, 1993), sendo detectada pela primeira vez no hemisfério ocidental em 1913, na Jamaica e descrita por Asbhy em 1915. Na América do Sul, a mosca-negra encontra-se no Brasil, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Venezuela (CABI, 2016).

No Brasil, *A. woglumi* foi constatada inicialmente na área urbana de Belém, em 2001 (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001). O Maranhão foi o segundo estado brasileiro a relatar a presença da praga, em setembro de 2003, nos municípios de Boa Vista do Gurupi, Imperatriz e Bacabal, em pomares de citros, e em março de 2004, em Barra do Corda e São Luís, em citros e mangueiras (LEMOS et al., 2006).

A praga era considerada quarentenária no Brasil. Atualmente, em função de sua ampla dispersão, não é mais considerada uma praga quarentenária A2, representando uma ameaça à citricultura brasileira, necessitando medidas fitossanitárias rigorosas para seu controle (BRASIL, 2014).

Até o início de 2008, a mosca-negra-dos-citros estava restrita aos Estados do Amapá, Amazonas, Belém, Maranhão e Tocantins (LEMOS et al., 2007), sendo constatada também em São Paulo, nos municípios de Arthur Nogueira, Cosmópolis, Engenheiro Coelho, Holambra, Limeira, Conchal, Paulínia e Mogi-Mirim (RAGA e COSTA, 2008; YAMAMOTO et al., 2008) e ao norte de Goiás, em Porangatu e Campinorte (INFO AGRICULTURA, 2008). No ano de 2009 também foi detectada no estado da Paraíba (LOPES et al., 2010). A partir de 2010 sua presença já foi confirmada nos estados da Bahia, Ceará, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rondônia, Rio Grande do Norte, Roraima, Rio de Janeiro, Pernambuco, Paraná, e Piauí (CORREIA et al., 2011; MONTEIRO et al., 2012; RAGA et al., 2013; MOLINA et al., 2014; ALMEIDA e LHANO, 2014 e SILVA et al., 2015).

2.2.2 Aspectos bioecológicos

A mosca-negra-dos-citros apresenta aparelho bucal tipo sugador labial tanto na fase jovem como na adulta, alimentando-se de grandes quantidades de seiva elaborada, causando definhamento lento da planta e levando-a à morte (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001).

As fêmeas selecionam as folhas jovens das plantas hospedeiras para ovipositar. A oviposição pode ser realizada a qualquer hora do dia, entretanto, é mais

intensa entre as 9 horas e 11 horas da manhã (FIGUEREDO, 2002). Os ovos possuem forma elíptica, medindo cerca de 0,2 mm de comprimento e se aderem às folhas por um pedicelo que fica inserido no interior dos estômatos das folhas. Os ovos recém-colocados são de cor branca cremosa, tornando-se marrom claro rapidamente. À medida que o embrião se desenvolve, os ovos vão escurecendo até adquirirem um tom quase negro, um pouco antes da eclosão. Eles são colocados em forma de espiral, na face abaxial das folhas, em grupos de 30 a 35 (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001; CUNHA, 2003).

O inseto possui três estágios ninfais e um quarto estágio, denominado “pupa”. As ninfas eclodem de 4 a 12 dias após a oviposição, dependendo das condições climáticas. Estas ninfas, bastante ativas, movem-se por um curto período de tempo e possuem três pares de pernas, alongado e escurecido, apresentando dois filamentos compridos e outros mais curtos. Ao se alimentarem, inserem suas peças bucais nas folhas e começam, então, a sugar a seiva elaborada. Inicialmente as ninfas são transparentes e gradualmente vão escurecendo, adquirindo uma cor café escuro, possuem formato ovalado, medindo aproximadamente 0,3 mm de comprimento e 0,15 mm de largura. O primeiro ínstar dura de 7 a 16 dias. Ao passarem para o segundo ínstar, tornam-se sésseis, adquirindo aspecto convexo na região dorsal, medindo 0,4 mm de comprimento a 0,2 mm de largura, apresentando coloração marrom-escuro ou preta com manchas amareladas, e com espinhos por todo o corpo e duram de 8 a 13 dias. O terceiro ínstar se diferencia do segundo apenas pelo tamanho das ninfas, que medem 0,87 mm de comprimento e 0,74 mm de largura e os espinhos são mais visíveis. A partir deste ínstar já é possível a distinção dos sexos. Os machos medem 0,59 mm de comprimento por 0,18 mm de largura e são menores que as fêmeas que medem, por sua vez, 0,68 x 0,24 mm e a duração neste estágio varia de 6 a 20 dias (DIETZ e ZETEK, 1920; SMITH, MALTBY e JIMENEZ, 1964; MARTÍNEZ e ANGELES, 1973; OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001; CUNHA, 2003).

A “pupa”, o quarto ínstar possui formato elíptico, sendo a parte anterior menor que a posterior. O pupário é convexo e coberto com numerosos espinhos dorsais. Os sexos são prontamente distinguíveis; a fêmea mede em média 1,24 x 0,71 mm e é muito mais larga que os machos, que medem 1,00 x 0,61 mm. Adicionalmente, uma fina camada de cera branca e filamentosa é secretada ao redor do corpo, sendo que os machos secretam mais cera que as fêmeas. Este estágio dura de 16 a 50 dias. Na emergência do adulto, uma abertura em forma de “T” aparece na parte anterior da pupa e se torna visível aproximadamente uma hora antes da emergência dos adultos. Após 24

horas de sua emergência, os insetos que são bem pequenos ficam cobertos por uma fina camada pulverulenta que dá ao corpo uma coloração azul-acinzentada, as quais recobrem as asas e todo o corpo do inseto, muito embora marcas esbranquiçadas possam ser observadas nas margens das asas (NGUYEN e HAMON, 1993). Uma fêmea apresenta longevidade de 10 a 14 dias e põe cerca de 100 ovos em várias posturas. Os ocelos são marrom avermelhados, e as pernas e antenas são amarelo-esbranquiçadas (DIETZ e ZETEK, 1920; CUNHA, 2003; MELLO e MAIA, 2008).

Os fatores ambientais afetam diretamente o ciclo biológico de *A. woglumi*. O desenvolvimento do inseto é favorecido por temperaturas entre 20°C e 32°C e umidade relativa do ar elevada, entre 70 e 80%, sendo que esta espécie não sobrevive, por um longo período, a temperaturas em torno de 40°C. Além disso, ventos fortes, chuvas pesadas, mostraram-se capazes de desalojar e matar os adultos da mosca-negra (MELLO e MAIA, 2008).

A temperatura ideal para o desenvolvimento da mosca-negra, oscila próxima aos 25°C ± 3°C. Nesta faixa, o desenvolvimento torna-se mais acelerado e conseqüentemente, ocorre um aumento populacional do inseto, devido ao aumento do número de gerações. Já na faixa acima de 40°C estes insetos entram em dormência temporária. Por outro lado, quando a temperatura do ar é reduzida abaixo dos 15°C, ocorre a hibernação temporária dos insetos (MORAES et al., 2014).

A precipitação foi o principal fator meteorológico que atuou sobre a densidade populacional dos estádios ninfais e dos adultos, de acordo com Medeiros et al. (2009) e Imperato (2014), sendo verificado que *A. woglumi* ocorreu em todos os meses do ano, já seus picos populacionais concentraram-se no período de baixa precipitação pluviométrica.

2.2.3 Principais hospedeiros, dispersão, danos e importância econômica

Os hospedeiros primários de *A. woglumi* são as plantas do gênero *Citrus* spp., cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e abacateiro (*Persea americana* Mill.) e secundários o cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e a mangueira (*Mangifera indica* L.). Porém, em elevada densidade populacional, os adultos se dispersam para outras plantas hospedeiras como jambeiro-vermelho [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry] e

grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.). No geral, a espécie possui cerca de 300 plantas hospedeiras (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001; CUNHA, 2003).

Em algumas regiões do Brasil, segundo Raga e Maia (2013), jaqueiras (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) e mangueiras, principalmente as da variedade Palmer são severamente atacadas pelo inseto. Os adultos podem ser encontrados em um grande número de espécies botânicas, como por exemplo em plantas espontâneas ou de mandioca, mas sem apresentar posturas ou ninfas. Em 2011, foi relatada a ocorrência do inseto atacando o mogno africano (*Khaya ivorensis* A. Chev), em áreas de reflorestamento na Amazônia Oriental (FARIAS et al., 2011).

A disseminação da mosca-negra ocorre de forma antrópica, por meio de mudas ou plantas ornamentais infestadas e transportadas pelo homem e pode ocorrer naturalmente, por meio de folhas infestadas carregadas pelo vento ou dispersão natural pelo crescimento populacional da praga. Sua dispersão pode ocorrer também verticalmente na planta e horizontalmente entre plantas. O inseto possui uma capacidade de vôo de 187 metros em 24 horas (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001; MELLO e MAIA, 2008).

Tanto os adultos como as formas imaturas da mosca-negra-dos-citros causam danos por se alimentarem da seiva elaborada do floema, sugando os nutrientes e deixando as plantas debilitadas, levando-as ao murchamento e, na maioria das vezes, à morte. O inseto excreta uma substância açucarada, induzindo o aparecimento de fungos saprófitas, que por serem escuros, formam a chamada fumagina, que, em grande quantidade, reveste folhas, frutos e ramos, reduzindo a fotossíntese e impedindo a respiração celular. Em altas concentrações, a fumagina interfere na formação, tamanho e qualidade dos frutos, prejudicando a produção e diminuindo o valor comercial do produto (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001; MELLO e MAIA, 2008).

Nos países onde ocorre, a mosca-negra pode causar de 20 a 80% de perdas na produção, afetando assim a produção agrícola e as exportações, não apenas de citros como a de outras fruteiras. Cerca de 5 a 10 ninfas por centímetro quadrado são suficientes para reduzir o nível de nitrogênio abaixo dos 2,2% necessários para uma boa frutificação em laranja. Trabalhos conduzidos no México dão conta de que mais de 90% da redução na produção de frutos ocorre quando as infestações excedem 5 a 7 ninfas/cm²/folha. Quando o ataque severo se dá nas plantas ainda novas ou em fase de mudas, pode levá-las à morte (SUMMY et al. 1983, NGUYEN e HAMON, 1993; OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001; CUNHA, 2003).

Raga, Basilli e Soares (2012), constataram em trabalho realizado no município de Artur Nogueira (São Paulo, Brasil) que o comportamento de oviposição, aliado com altos níveis de infestação observados demonstram o elevado potencial biótico de *A. woglumi* em citros, tornando recomendável a adoção do manejo integrado da praga para alcançar o controle populacional da praga.

2.2.4 Métodos de controle

2.2.4.1 Controle cultural

Uma vez detectada a presença de folhas com ovos, ninfas ou pupas, proceder à eliminação das partes infestadas da planta, que deverão ser queimadas, garantindo que toda parte vegetativa seja eliminada. Após a remoção das partes infestadas, deverão ser instaladas armadilhas adesivas amarelas para monitoramento e captura de adultos, sendo a troca das armadilhas realizada a cada sete dias (MELLO e MAIA, 2008). Além disso, outras medidas de mitigação de risco podem ser tomadas para evitar a disseminação do inseto, são elas: evitar o transporte de vegetais ou partes de vegetais infestados para áreas de não ocorrência da praga; produção e transporte de mudas de plantas hospedeiras em ambiente telado; lavagem e desinfecção de tratores, implementos e material de colheita e lavagem de frutos colhidos para comercialização e oriundos de pomares infestados pela praga (RAGA e COSTA, 2008).

2.2.4.2 Controle químico

No Brasil, o controle químico de *A. woglumi* tem sido realizado com os produtos Ampligo® (clorantraniliprole + lambda-cialotrina), Kohinor 200 SC® (imidacloprido), Provado 200 SC® (imidacloprido), os únicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2015), sendo eficientes no controle de ninfas e adultos.

2.2.4.3 Controle alternativo

Os óleos minerais, vegetais ou derivados também têm ação positiva sobre a mosca-negra-dos-citros e podem melhorar as estratégias de controle da praga, causando mínimo efeito nocivo sobre populações de inimigos naturais e espécies não-alvo (RAGA e COSTA, 2008). A ação ovicida e a diminuição do percentual de eclosão de ninfas da mosca-negra foi constatada por Silva et al. (2012), ao utilizarem os óleos comerciais de soja (*Glycine max* L. Mer.), milho (*Zea mays* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e extrato de nim.

Vieira et al. (2013) ao estudarem o efeito ovicida dos óleos comerciais de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labil.), alho (*Allium sativum* L.), gergelim (*Sesamum indicum* L.), mamona (*Ricinus communis* L.) e cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) no controle de *A. woglumi*, observaram que para todos os óleos quando aumentaram-se as concentrações, diminuiu-se a porcentagem de viabilidade dos ovos, sendo os óleos de eucalipto e alho os que promoveram as menores porcentagens de ninfas eclodidas, demonstrando que estes produtos têm efeito tóxico, afetando o desenvolvimento biológico da praga.

2.2.4.4 Controle biológico

A aplicação do controle biológico pode ser considerada como uma alternativa válida para restaurar a biodiversidade funcional em ecossistemas agrícolas, pois, toda população de insetos na natureza é atacada de alguma maneira por um ou mais inimigos naturais. Assim, predadores, parasitoides e entomopatógenos atuam como agentes de controle natural que, quando são adequadamente manejados, podem determinar a regulação das populações de herbívoros em um agroecossistema particular (NICHOLLS, 2004). Esse tipo de controle é vantajoso para o combate de pragas e doenças em relação ao controle químico, especialmente quanto ao aspecto ambiental, uma vez que os produtos químicos têm efeito negativo sobre o solo, água, vegetação, animais e homem, além de provocar a seleção de indivíduos resistentes (FRANCESCHINI et al., 2001).

O controle biológico da mosca-negra foi iniciado em Cuba, em 1929, com a introdução de vários inimigos naturais provenientes de países da Ásia, como

os parasitoides *Eretmocerus serius*, *Encarsia clypealis* e *E. opulenta* (Silvestri, 1927) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Amitus hesperidum* (Silvestri, 1927) (Hymenoptera: Platygasteridae), e dos predadores *Delphastus pusillus* (Leconte, 1852) e *Scymnus* spp. (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysoperla* spp. (Neuroptera: Chrysopidae) e o fungo entomopatogênico *Aschersonia aleyrodis* (OLIVEIRA, SILVA e NÁVIA, 2001).

Em todos os países onde ocorreu ou há ocorrência da mosca-negra-dos-citros, o controle biológico foi o método mais eficiente, reduzindo a densidade populacional a níveis de equilíbrio, sem causar danos econômicos. O parasitoide *Amitus hesperidum* foi importado da Índia e introduzido no México, sendo posteriormente liberado no Texas e na Flórida (NGUYEN, 2008). No ano de 2000, com a liberação da vespinha *A. hesperidum* em pomares de citros de Trindade, o controle da mosca-negra foi superior a 98% (WHITE, KAIRO e LOPEZ, 2005).

No Brasil, os autores Mello e Maia (2008) e Raga e Maia (2013) constatarem vários inimigos naturais, principalmente em pomares do Estado do Pará e São Paulo, dentre eles os fungos entomopatogênicos do gênero *Aegerita*, *Aschersonia* e *Fusarium* sp., onze espécies predadoras de crisopídeos (Neuroptera), dentre elas, *Ceraeochrysa* sp. e *Leucochrysa* sp. popularmente chamados de “bichos-lixeiros”, a joaninha *Delphastus pusillus* e o sirfídeo, *Ocyptamus gastrostactus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Syrphidae), além dos parasitoides afelinídeos, *Cales noacki* (Howard, 1907) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Encarsia* sp.

2.3 Fungos entomopatogênicos

O controle biológico é um componente vital nos agroecossistemas sustentáveis, visto que, constitui uma medida ecologicamente sustentável que objetiva reduzir os insumos externos e melhorar a quantidade e qualidade dos recursos internos, mediante a utilização de organismos devidamente selecionados por sua eficiência e inocuidade, além da capacidade de serem gerados a partir de recursos locais e possuírem caráter endógeno (GUÉDEZ et al., 2008).

O uso desses agentes biocontroladores constitui uma necessidade econômica e ecológica. Estes organismos são essenciais para a sustentabilidade da agricultura, pois, atualmente, há uma grande preocupação em reduzir o dano ambiental causado pelo uso dos agrotóxicos e o uso de microrganismos para o controle de pragas

representa um avanço ecológico para solucionar os problemas causados por estes produtos (ALVES, 1998).

Entre os agentes passíveis de utilização no controle de pragas, os fungos entomopatogênicos são considerados um dos mais importantes e com largo espectro de utilização. Eles são capazes de atacar diversas espécies de insetos, possuem baixa toxicidade para outros organismos, baixo impacto ambiental, são versáteis, podendo infectar diferentes estádios de desenvolvimento dos hospedeiros e causam frequentemente epizootias naturais. Além disso, devido ao processo de infecção multifatorial realizados pelos fungos, a probabilidade dos insetos adquirirem resistência é menor ou mais lenta do que a resistência adquirida aos agrotóxicos (JUNGES, 2010).

A grande variabilidade genética desses entomopatógenos citada por Alves (1998), também pode ser considerada umas das principais vantagens no controle microbiano de insetos e a capacidade de penetração via tegumento, altamente especializada representa uma característica que coloca os fungos em vantagem quando comparados a outros agentes patogênicos.

2.3.1 Modo de ação

A maioria dos fungos entomopatogênicos inicia o processo de infecção com a adesão de conídios à cutícula dos hospedeiros. O mecanismo de adesão envolve forças hidrofóbicas, eletrostáticas e interações fisiológicas entre o fungo e a superfície do hospedeiro. Após a adesão, os conídios formam tubos germinativos e hifas, que penetram na cutícula. Proteases, quitinases e lipases são produzidas e favorecem a penetração do fungo no hospedeiro. Após a penetração, as hifas se ramificam e atingem a hemocele. O sistema imunológico do hospedeiro exerce um papel de defesa e tenta impedir o crescimento fúngico. Porém, os fungos entomopatogênicos conseguem vencer este sistema de defesa do hospedeiro, colonizando o inseto e excretando toxinas que em associação a distúrbios na hemocele provocados por crescimento de corpos hifais e micélio, levam o hospedeiro à morte. No hospedeiro morto, o fungo invade vários sistemas como o digestivo, nervoso e muscular e posteriormente, hifas emergem dos espiráculos e da cutícula havendo a esporulação. Os conídios sobre o cadáver podem ser disseminados no ambiente, pela água, vento, animais e infectar novos hospedeiros (ALVES, 1998).

Em áreas de clima tropical, epizootias naturais de *Aschersonia* spp., *Isaria* spp., *Lecanicillium* spp., *Hirsutella* spp., *Nomuraea rileyi*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Cordyceps* spp., e de muitas espécies de fungos da ordem Entomophthorales são frequentes. É provável que na América Latina, para cada praga, haja no mínimo um patógeno capaz de exercer o seu controle sustentável (ALVES et al., 2008a, ALVES et al., 2008b).

2.3.2 Espécies de fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos que frequentemente são isolados de aleirodídeos pertencem a mais de 20 espécies, incluindo *A. aleyrodis*, *Lecanicillium* sp., *Isaria* sp., *B. bassiana* (RAMOS, 2004).

O gênero *Aschersonia* constitui um dos agentes mais importantes que atuam no controle natural de pragas de citros. No Brasil sua ocorrência é muito comum. Ele possui um reduzido número de hospedeiros, limitando-se a moscas brancas e coccídeos. Foi um dos primeiros fungos utilizados no controle biológico de insetos pragas na América do Norte. A época mais favorável às epizootias coincide com a maior precipitação pluviométrica, períodos extensos de alta umidade e temperaturas adequadas para induzir a esporulação do fungo no corpo do inseto (BERGER, 1921; ALVES, 1998; LOURENÇÃO, YUKI e ALVES, 1999).

Aschersonia aleyrodis Webber (Hypocreales: Clavicipitaceae) é eficiente no controle da mosca-negra-dos-citros. Em trabalho realizado por Pena et al. (2009) sob condições laboratoriais, o fungo controlou o inseto em concentrações a partir de $2,3 \times 10^7$ conídios/mL, sendo as maiores mortalidades encontradas nas fases mais jovens de *A. woglumi* como ovo, ninfa (estádios 1 e 2). No estágio de pupa ocorreu a menor mortalidade.

Lecanicillium lecanii (Zimmermann) Zare & Gams (Hypocreales: Cordycipitaceae) é um dos agentes fúngicos mais efetivos e promissores para controle de insetos e ocorre frequentemente em afídeos, coccídeos e aleirodídeos, além de nematoides e fungos fitopatogênicos. É considerado como um complexo de espécies, que inclui *L. lecanii*, *L. muscarium* e *L. longisporum* (HALL, 1981; GRAJEK, 1994; ZARE e GAMS, 2001). Possui aspecto cotonoso e coloração branca-amarelada tênue. Os conídios são geralmente elípticos e encontram-se envoltos por uma massa

gelatinosa na extremidade da fíalide, apresentam aspecto liso e de tamanho variado dependendo do isolado, como não apresentam mobilidade própria, os conídios são involuntariamente, colhidos pela movimentação de insetos, graças à substância mucilaginosa com a qual são recobertos e que permite tal adesão (CASTALDI e NICOLI, 1993).

Esse fungo possui a capacidade de causar grandes mortalidades em pulgões sob condições naturais e em tripes, moscas-brancas e ácaros. Ele requer umidade relativa entre 85 e 90%, necessita de temperatura entre 20 e 25 °C para causar alta mortalidade. O fungo parece ser inócuo ao homem e outros vertebrados, devido a sua baixa capacidade de crescimento sob temperaturas acima de 37°C. Além disso, não tem sido observado colonizando insetos úteis ou de importância no controle biológico. No Brasil, ocorre naturalmente em culturas importantes, causando epizootias, como em cochonilhas de citros e *Coccus viridis* (Green, 1889) (Hemiptera: Coccidae) em cafeeiro. A presença de insetos doentes é facilmente determinada em função do aparecimento de um halo branco em volta do inseto atacado, associado à estrutura característica do conidióforo com forma de furador e dos conídios do fungo (ALVES, 1998).

Ao avaliar a patogenicidade de 50 isolados de 8 espécies de fungos entomopatogênicos (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosoroseus*, *P. lilacinus*, *L. lecanii*, *Lecanicillium* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Sporothrix* sp.) para o controle de ninfas de 2° e 3° ínstaes de *Praelongorthezia praelonga*, Garcia (2004) verificou que os melhores resultados foram obtidos com os isolados de *L. lecanii* proporcionando 46,6 % de mortalidade, após 12 dias de aplicação. Cuthbertson e Walters (2005) ao avaliarem o isolado *L. muscarium*, constatararam que o patógeno tem potencial para ser um importante agente de controle biológico no controle de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae).

O efeito do entomopatógeno *Lecanicillium* spp. sobre o parasitoide *Aphidius colemani* (Vierck, 1912) (Hymenoptera: Aphidiidae) foi estudado por Aiuchi et al. (2012), onde foram observados parâmetros como, longevidade dos adultos, comportamento de oviposição, velocidade de emergência e longevidade da geração F1 sob condições de laboratório, concluindo que a utilização do entomopatógeno e do parasitoide pode ser feita concomitantemente para o controle de pulgões, pois ambos são altamente compatíveis.

Isaria fumosorosea Wize (Hypocreales: Cordycipitaceae), foi descrito como *Paecilomyces fumosoroseus* por M. Wize em 1904 na Ucrânia, no gorgulho

da beterraba, sendo uma espécie complexa, pela existência de grande variabilidade intraespecífica. Pode ser encontrado no solo, nas plantas, no ar. Fatores bióticos e abióticos podem influenciar o crescimento, a estabilidade e a patogenicidade deste agente. Entre os fatores abióticos de maior importância destacam-se a temperatura, umidade relativa, radiação ultravioleta e planta hospedeira do inseto-alvo. O fungo cresce rapidamente e coloniza com micélio branco, podendo mudar para cor rosa ou púrpura. Possui conídios de formato cilíndricos a fusiformes (ZIMMERMANN, 2008).

I. fumosoroseus é um dos mais promissores agentes controladores. Ele se mostrou eficiente no controle de térmitas, de acordo com Wright et al. (2003) e sobre ninfas de *Bemisia argentifolli* (Bellows & Perring, 1994) (Hemiptera: Aleyrodidae) nas culturas de tomate, repolho e pepino, quando cultivadas em casa de vegetação, de acordo com Vidal et al. (1998). Estudo semelhante feito por Hunter et al. (2011), com *Homalodisca vitripennis* (Germar, 1821) (Hemiptera: Cicadellidae), *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae) e *Diaprepes abbreviatus* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae) sob condições laboratoriais também constataram o fungo como potencial agente biocontrolador, com índices de mortalidade de até 100%. Nos últimos anos, as pesquisas revelaram que isolados deste fungo foram patogênicos a ninfas e adultos de *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Aleyrodidae) em condições de semicampo e campo no Brasil (HOY, SINGH e ROGERS, 2010; CONCESCHI, 2013; AUSIQUE, 2014).

Beauveria (Hypocreales: Cordycipitaceae) é o fungo mais comumente encontrado em insetos mortos no ambiente natural. Além disso, ocorre enzooticamente ou causa epizootias em espécies de pragas. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin é um patógeno amplamente estudado como agente de controle biológico para muitas espécies de insetos-praga, sendo um dos fungos de ocorrência generalizada em todos os países. Podem ocorrer em lepidópteros, coleópteros, hemípteros, dípteros, himenópteros e ortópteros. Seus conídios podem penetrar em qualquer parte da cutícula do inseto, ou até mesmo pelo aparelho respiratório e digestório, juntamente com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) são as espécies mais estudadas e utilizadas no controle de pragas (SAMSINAKOVA, 1966; IGNOFFO, 1975; PIRES, 2002).

Potrich et al. (2011) avaliaram a virulência dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Isaria* sp. a *B. tabaci*, concluindo que os isolados de *B. bassiana* e *Isaria* sp. foram os que apresentaram maior potencial para o

controle da praga com valores de mortalidade 84,1% e 98,6% respectivamente, quando utilizados na concentração de 1×10^9 conídios/mL.

A classificação de *Fusarium*, geralmente se baseia em estudos morfológicos e fisiológicos, e mais recentemente em características moleculares. O gênero apresenta grandes dificuldades taxonômicas devido sua grande variabilidade e à instabilidade de certas características usadas em sua classificação (URBEN et al., 2009). O gênero foi descrito desde meados dos anos 80 como promissor no controle de insetos. São fungos filamentosos distribuídos no solo e associados com plantas, porém, este gênero tem espécies patogênicas e não patogênicas para plantas e não apresenta produtos disponíveis no mercado. É de grande importância para o controle de pragas, por ter ampla gama de insetos hospedeiros, incluindo espécies de Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera e Lepidoptera (TEETOR-BARSCH e ROBERTS, 1983; HUMBER, 1992; ALVES, 1998; LESLIE e SUMMERELL, 2006).

As espécies de *Fusarium* que ocorrem sobre insetos parecem se comportar como patógenos pouco virulentos, exceto as que ocorrem em cigarrinhas e dípteros que são altamente patogênicas como *Fusarium lateritium*. Além disso, alguns autores citam como vantagem o fato de não ter sido detectado nenhum dano às plantas cultivadas e ser de fácil multiplicação em laboratório. Dentre as espécies de *Fusarium* que vem sendo amplamente estudadas, encontra-se *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg (Hypocreales: Nectriaceae). Este fungo é normalmente apontado como patógeno de raiz em algumas gramíneas, como milho e pode ser encontrado em plantas ou resíduos em praticamente todos os campos de milho. Plantas atacadas por este fungo apresentam podridão na coroa, no colmo e em grãos de milho (TEETOR-BARSCH e ROBERTS, 1983; HUMBER, 1992; ALVES, 1998; LESLIE e SUMMERELL, 2006).

Fusarium também vem sendo utilizado no controle de insetos, devido sua capacidade de produzir toxinas, em elevados níveis, incluindo a beauvericina, fusaproliferina, ácido fusárico, fusarinas e moniliformina, substâncias as quais já se sabem estarem ligadas a capacidade de fungos entomopatogênicos em causar a morte de insetos. As fumonisinas são produzidas por *F. proliferatum* em níveis elevados (LESLIE e SUMMERELL, 2006). Até o presente momento, 28 fumonisinas foram isoladas e caracterizadas, sendo a fumonisina B₁ (FB₁) a mais importante do grupo, sendo associada a edema pulmonar em suínos, câncer hepático em ratos, redução do desenvolvimento, imunossupressão, problemas cardíacos, degeneração e necrose hepática em aves, além de estar associada ao câncer esofágico em humanos (MARASAS, 1996).

Fusarium verticillioides foi encontrado pela primeira vez em 2008, causando epizootias em *Tropidacris collaris* (Stoll, 1813) (Orthoptera: Romaleidae) na Argentina, sendo então isolado dos insetos mortos e conduzidos para testes com intuito de comprovar sua patogenicidade. Os testes foram realizados com *Ronderosia bergi* (Stal, 1878) (Orthoptera: Acrididae) sob condições laboratoriais com resultados positivos, constatando-se 58% de mortalidade dez dias após a inoculação (PELIZZA et al., 2011). Já, Lazo (2012) observou a espécie *Fusarium proliferatum* em uma epizootia no percevejo-bronzeado em campo e confirmou nos testes de patogenicidade em laboratório a capacidade do fungo de causar a morte do inseto *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero & Dellapé 2006) (Hemiptera: Thaumastocoridae) a partir de 24 horas.

Purpureocillium lilacinum (Thom.) Luangsa-ard et al. (= *Paecilomyces lilacinus*) (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) é um fungo filamentosos, que apresenta distribuição cosmopolita, comumente isolado na maioria dos solos agrícolas, vegetação em decomposição, insetos, nematoides, no ar e até mesmo em alguns vertebrados, incluindo o homem (LUANGSA-ARD et al., 2011; MEDRANO-LÓPES, MADERA, FOZ, 2015). É um saprofita capaz de utilizar grande faixa de substratos, seu desenvolvimento é favorecido por temperaturas entre 15 e 30°C, com ótimo crescimento entre 25 e 30°C, ou seja é observado com maior frequência em regiões quentes. Sua adaptabilidade a uma ampla faixa de pH do solo torna-o um organismo competitivo em solos agricultáveis, além disso, é compatível com muitos fungicidas e nematicidas (JACOBS et al., 2003). Quando aplicado no solo e em ambientes favoráveis o fungo se estabelece, cresce e dissemina-se rapidamente e, em curto período de tempo, torna-se a espécie dominante (NUNES, 2008). É também uma das espécies mais estudadas do gênero devido sua atividade nematicida e capacidade de causar infecções em humanos e animais (PERDOMO et al., 2013).

É um fungo parasita de ovos e cistos de *Meloidogyne incognita*, e outras espécies de nematoides, incluindo *Radopholus similis*, *Heterodera* spp., *Globodera* spp., *Rotylenchulus reniformes* (KANNAN e VEERAVEL, 2012; CARRION e DESGARENNES, 2012; ALZATE, PIEDRAHITA e CAYCEDO, 2012; CASTILLO, LAWRENCE e KLOEPPER, 2013). Além do que, há relatos também de sua patogenicidade sobre algumas espécies de insetos, tais como, *Aphis gossypii* (Glover, 1877) (Hemiptera: Aphididae), *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Thrips palmi* (Karny, 1925) (Thysanoptera: Thripidae),

Tribolium confusum (Jacquelin du Val, 1863) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae), e os ácaros *Tetranychus urticae* (Carl Ludwig Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) e *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Ixodida: Ixodidae) (MARTI et al., 2006; FIEDLER e SOSNOWSKA, 2007; WAKIL et al., 2012; ANGELO et al., 2012; HOTAKA et al., 2015; BARRA, ETCHEVERRY e NESCI, 2015).

A base molecular que rege o mecanismo patogênico de *P. lilacinum* sobre os nematoides ainda não foi elucidada. Entretanto, alguns experimentos mostram que somente as enzimas extracelulares proteases e quitinases foram caracterizadas molecularmente. Elas estão envolvidas no processo de degradação dos ovos e corpo dos nematoides e de insetos parasitados pelo fungo. Ademais, o entomopatógeno produz uma micotoxina, denominada paecilotoxina. Estes fatores são considerados determinantes da virulência do fungo (PRASAD, VARSHNEY e ADHOLEYA, 2015). Além da capacidade do fungo de produzir enzimas, *P. lilacinum* é um candidato promissor para o desenvolvimento de um biofertilizante orgânico, pois pode produzir auxinas, ácido indolacético ativo (IAA) quando produzido pelo método de fermentação submersa (CAVELLO et al., 2015).

O controle de insetos-praga com fungos entomopatogênicos é uma opção viável e desejável que pode evitar aplicações químicas desnecessárias, além de aumentar a proteção ambiental. Estes agentes são capazes de infectar um amplo número de hospedeiros e mantê-los em equilíbrio através de epizootias no campo. O controle biológico com o uso destes microrganismos é uma ferramenta importante no manejo integrado de pragas na agricultura (ALVES, 1998).

2.4 Compatibilidade entre entomopatógenos e agrotóxicos

A agricultura brasileira, por muitos anos, tem utilizado produtos químicos como principal arma para o controle dos insetos considerados pragas. Tais produtos, foram rotulados como eficazes, tendo como principal vantagem a capacidade de eliminar diferentes espécies de insetos em diferentes cultivos. Além desta aparente vantagem, o custo relativamente compensador foi outro fator que ajudou a impulsionar cada vez mais o uso destes produtos na agricultura. No entanto, com o passar do tempo começaram a aparecer os primeiros problemas nas áreas onde usualmente se faziam

aplicações dos agrotóxicos, como o acúmulo de resíduos tóxicos em alimentos, contaminação da água e do solo, intoxicação de produtores rurais, aparecimento de pragas resistentes, redução dos inimigos naturais, ocasionando surtos de insetos-praga, entre outros problemas (KIM et al., 2003; COSTA et al., 2004; MENEZES, 2005).

Como alternativa à aplicação sistemática desses produtos surgiu, na década de 50, o manejo integrado de pragas (MIP). O conceito do MIP abrange a utilização de todas as técnicas disponíveis para a regulação de uma população de pragas, que necessitam atuar de forma harmônica. Uma interface antagônica que tem merecido cuidado é a interferência de produtos químicos sobre os agentes de controle biológico (YAMAMOTO e BASSANEZI, 2003).

A integração de produtos fitossanitários com o controle biológico é, em muitos casos, crucial para o sucesso de um programa de MIP (SMILANICK, ZALOM e EHLER, 1996). A seletividade é definida como a propriedade que um produto apresenta de controlar a praga visada, com o menor impacto possível sobre os componentes de um agrossistemas, dentro do Manejo Integrado de Pragas. Representa a capacidade que um produto tem de possuir baixo efeito sobre os inimigos naturais, nas mesmas condições em que a praga visada é controlada (GAZZONI, 1994).

Uma série de agrotóxicos, como inseticidas, herbicidas e os reguladores de crescimento de plantas podem afetar os inimigos naturais, comprometendo assim a eficiência no controle das pragas (FOERSTER, 2002; DESNEUX, DECOURTYE e DELPUECH, 2007). Os fungos entomopatogênicos, por exemplo, podem ser inibidos pelos agrotóxicos o que compromete o manejo integrado. Existem diversas estratégias para a utilização de entomopatógenos, tais como a introdução inoculativa e inundativa, a incrementação e a conservação, sendo esta última a estratégia mais prática e econômica, pois preserva os patógenos dentro dos agroecossistemas. Assim, a busca por produtos mais seletivos para utilização no controle de pragas é necessária, para que não eliminem ou diminuam a ação dos inimigos naturais podendo até promoverem uma interação sinérgica quando utilizados em associação com os microrganismos entomopatogênicos (ALVES, MOINO JÚNIOR e ALMEIDA, 1998).

O impacto da aplicação desses agrotóxicos sobre os entomopatógenos, pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das concentrações utilizadas. Assim, o conhecimento prévio do efeito tóxico dos produtos que serão utilizados, forma de aplicação, modo de ação, dose adequada, é necessário, de forma a garantir a permanência dos inimigos naturais no

agroecossistema (ALVES, MOINO JÚNIOR e ALMEIDA, 1998; SILVA, NEVES e SANTORO, 2005).

A suscetibilidade dos agentes microbianos a diferentes agrotóxicos, vem sendo relatada há anos, quando foi observada, *in vitro*, a inibição do crescimento do fungo *Cephalosporium aphidicola* Match, devido aos fungicidas benomyl e triarimol utilizados no controle do afídeo do melão e algodão (WILDING, 1972).

Ao longo dos anos diversos trabalhos foram desenvolvidos e atualmente vêm contribuindo para auxiliar na escolha do produto fitossanitário que menos afete o desenvolvimento dos patógenos, permitindo a manutenção de fontes de inóculo, indispensáveis para o desencadeamento de epizootias (BATISTA FILHO, OLIVEIRA e ALVES, 1987). Entre os trabalhos, estão os de Alves et al. (2001), ao avaliarem a eficácia do fungo *B. bassiana* associado ou não aos inseticidas Calypso 480 SC (tiacloprido), Gaucho 700 PM (imidacloprido) e Provado 200 SC (imidacloprido), concluíram que a utilização de ambos associadamente constitui uma estratégia adequada para o controle de *B. tabaci*. Resultados semelhantes foram encontrados por Loureiro et al. (2002), ao analisarem o efeito de diversos produtos fitossanitários utilizados na cultura da alface e crisântemo sobre os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosoroseus* e *L. lecanii*, onde determinou-se que os ingredientes ativos tiametoxam e imidacloprido foram compatíveis com todos os fungos estudados.

Silva et al. (2013), ao testar a toxicidade *in vitro* de oito inseticidas, quatro fungicidas e cinco herbicidas sobre a germinação de conídios, crescimento vegetativo e viabilidade do fungo *M. anisopliae*, verificaram que os produtos comerciais Bravik (paration metílico), Actara (tiametoxam), Karate Zeon (lambda-cialotrina), Roundup Original (glifosato), Basagran (bentazona) e Kifix (imazapic + imazapyr) foram compatíveis e podem ser utilizados em associação com o agente de biocontrole. Estes resultados são similares com os encontrados por Cintra et al. (2013), também sob condições de laboratório, utilizando o mesmo entomopatógeno e os fungicidas Recop (oxicloreto de cobre) e Garant (hidróxido de cobre) e o inseticida Actara (tiametoxam). Entretanto, Velozo (2015), ao avaliar os fungicidas Priori Xtra (azoxistrobina + ciproconazol), Nativo (tebuconazol + trifloxistrobina) e Comet (piraclostrobina) verificou que eles foram altamente tóxicos para os isolados testados de *Fusarium* spp.

Em condições de campo, o número de trabalhos relacionados a interação de entomopatógenos e agrotóxicos ainda é reduzido. No entanto, apesar dos

estudos *in vitro* terem a vantagem de expor ao máximo os microrganismos à ação do agrotóxico, o estudo em campo é extremamente importante e essencial, pois é nesta condição que os patógenos são normalmente encontrados, e também onde permanecerá após uma introdução para o controle de um inseto-praga (MOINO JÚNIOR e ALVES, 1998).

Ao avaliarem a compatibilidade dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. lecanii* e a bactéria *Bacillus thuringiensis* ao produto comercial Actara 250 WG (tiametoxam) *in vitro* e *in vivo*, Almeida et al. (2003) concluíram que eles podem ser utilizados simultaneamente no manejo integrado da broca-do-café. Gassen (2006) estudou o efeito de vinte agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba, sobre o fungo *B. bassiana* e os resultados mostraram que somente o inseticida Actara 250 WG foi compatível sob condições de laboratório, já nos testes em semicampo apenas os produtos comerciais Cuprozeb (oxicloreto de cobre + mancozeb), Manzate 800 PM (mancozeb) e Cerconil (tiofanato metílico + clorotalonil) não afetaram o entomopatógeno em nenhum dos parâmetros avaliados, portanto são indicados para serem utilizados no manejo integrado de pragas. Ao estudarem cinco inseticidas de grupos químicos diferentes Pinto et al. (2012) observaram que em laboratório os ingredientes ativos imidacloprido, tiametoxam, esfenvalerato, malationa e piriproxifen reduziram o crescimento do fungo, mas em casa de vegetação eles não afetaram a sobrevivência do fungo nas plantas de citros.

A utilização de produtos seletivos, combinados com métodos alternativos de controle é extremamente importante, por permitir uma menor necessidade de aplicações de agrotóxicos em campo, possibilitando o equilíbrio do agroecossistema com a manutenção dos organismos benéficos, garantindo, desta forma uma maior economia aos produtores, e principalmente a obtenção de produtos mais saudáveis para a população.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram desenvolvidos nos Laboratórios de Entomologia e Fitopatologia, do Núcleo de Biotecnologia Agrônômica da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), e os experimentos *in vivo* realizados em casa de vegetação da Fazenda Escola de São Luís, localizados no município de São Luís – MA.

3.1 Obtenção dos fungos

Foram utilizados os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium* isolados IBCB 66, IBCB 425, IBCB 537, pertencentes à Coleção de Fungos Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, Campinas, São Paulo, reconhecida como fiel depositária pelo IBAMA e os fungos *Fusarium proliferatum* e *Purpureocillium lilacinum*, isolados MGSS 61 e MGSS 136 (Tabela 1), pertencentes a Micoteca Prof. Gilson Soares da Silva (MGSS) da Universidade Estadual do Maranhão.

Todos os isolados foram mantidos armazenados, acondicionados em microtubos, tubos de cultura e água destilada e identificados por meio de análise molecular com sequenciamento realizado no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto Biológico.

Tabela 1. Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios e respectiva origem.

Isolados	Espécie	Hospedeiro original	Local de origem
IBCB 66	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Hypothenemus hampei</i>	São José do Rio Pardo - SP
IBCB 425	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Solo	Iporanga - SP
IBCB 537	<i>Lecanicillium muscarium</i>	Ácaro do café	Jeriquara -SP
MGSS 61	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	São Luís - MA
MGSS 136	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	Morros - MA

Para obter a suspensão inicial do inóculo, os conídios dos fungos relacionados foram produzidos a partir da repicagem em três pontos em placas plásticas de Petri estéreis (15 x 90 mm), contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) previamente autoclavado a 120°C por 20 minutos acrescido de pentabiótico. As placas foram mantidas em câmara de germinação do tipo BOD (26° ± 1°C e fotofase de 12 horas) por 14 dias para o crescimento e esporulação dos fungos.

Antes de cada bioensaio, foi determinada a viabilidade dos conídios, por meio da técnica de microcultivo e exame direto em lâminas de microscopia (MARQUES, MONTEIRO e PEREIRA, 2004).

A técnica de microcultivo em lâmina foi realizada inicialmente, colocando-se papel filtro umedecido sobre o fundo de uma placa de Petri de vidro (15 x 90 mm) e sobre o papel foi posicionado um canudo plástico de 13 cm comprimento, servindo como apoio para a lâmina de vidro de 25,4 x 76,2 mm e em seguida o material foi autoclavado a 120°C por 20 minutos. Três blocos de meio de cultura (BDA) (0,5 x 0,5 x 0,2 cm) foram então colocados com auxílio de uma alça de platina sobre a superfície da lâmina em pontos equidistantes e em cada bloco foi inoculada 0,1 mL da suspensão fúngica. Uma lamínula foi colocada imediatamente sobre a superfície dos blocos de ágar inoculados e as lâminas incubadas a 26° ± 1°C, durante 18h. Após este período, cada lamínula foi retirada e colocada sobre uma gota do corante lactofenol na superfície de outra lâmina e a observação de 150 conídios em cada lamínula realizada, utilizando-se microscópio com aumento de 400x. Foram contados conídios germinados e não

germinados, estabelecendo-se a porcentagem de germinação. Cada lâmina correspondeu a uma repetição, confeccionando-se três lâminas por tratamento (Figura 1). Só foram utilizadas suspensões que apresentaram viabilidade acima de 90%.



Figura 1. Lâmina para microcultivo de fungos entomopatogênicos visando a avaliação da viabilidade dos conídios.

3.2 Preparo das suspensões

Após o crescimento e conidiogênese, os conídios dos isolados *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *L. muscarium* e *P. lilacinum* foram raspados do meio de cultura com auxílio de uma espátula estéril, e colocados em frascos de Erlenmeyer (250 mL), contendo solução de (Tween 80®) a 0,01%.

Foram retirados 10 mL da suspensão de conídios para a inoculação em 200 g de arroz, utilizando-se pipeta estéril e a inoculação realizada em câmara de fluxo laminar.

O arroz parboilizado foi previamente colocado de molho em água por 50 minutos e em seguida escorrido, sendo então colocados em sacos de polipropileno. Os sacos foram fechados em duas dobras, com auxílio de grampeador e esterilizados em autoclave a 120°C por 20 minutos.

Após a distribuição dos fungos, os sacos foram novamente fechados, e agitados para uma distribuição uniforme dos conídios na massa de grãos. Cada isolado foi inoculado em cinco sacos de plásticos, acondicionados em câmara do tipo

B.O.D a $26^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 12 horas de fotofase por cinco dias para a germinação dos conídios e crescimento de micélio. Decorrido este período, foram selecionados para cada isolado quatro sacos não contaminados com crescimento uniforme de micélio para o preparo das suspensões.

As suspensões fúngicas foram preparadas, adicionando-se 10 mL de água esterilizada mais espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,01% em tubos de ensaios, em seguida foram colocados 1 g de arroz + fungo na solução do tubo. Os tubos foram agitados por agitação mecânica em vórtex e a alíquota de 1 mL da suspensão colocada em câmara de Neubauer, sendo então realizadas as contagens do número de conídios em microscópio óptico com aumento de 400 x e as concentrações ajustadas de acordo com os bioensaios.

F. proliferatum não foi produzido no substrato arroz, pois apresentou baixo crescimento micelial e conidiogênese neste tipo de meio, além do que, seus conídios apresentaram viabilidade abaixo de 50%. A viabilidade medida pela percentagem de germinação do fungo interfere diretamente na ação do patógeno, visto que denota a quantidade de propágulos vivos que podem vir a desencadear o processo infectivo. Sendo assim, optou-se por produzi-lo em placas de Petri contendo meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA) acrescido de pentabiótico.

3.3 Patogenicidade dos isolados de *Beauveria bassiana* (IBCB 66), *Metarhizium anisopliae* (IBCB 425), *Lecanicillium muscarium* (IBCB 537), *Fusarium proliferatum* (MGSS 61) e *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136) sobre ninfas de *Aleurocanthus woglumi* em laboratório

No teste de patogenicidade, devido às dificuldades do estabelecimento na criação de *A. woglumi*, foram utilizadas folhas de plantas da variedade limão Tahiti (*Citrus latifolia* T.), coletadas diretamente no campo, em pomar localizado no município de São Luís – MA, de coordenadas geográficas: latitude $02^{\circ} 54' 30''$ sul e longitude $44^{\circ} 12' 51''$ oeste.

As folhas foram coletadas aleatoriamente, na parte mediana das plantas e a abscisão realizada com auxílio de uma tesoura de poda, próximo à inserção do ramo. Os bioensaios foram realizados em condições de laboratório, sendo utilizadas folhas com ninfas de segundo e terceiro ínstares. Em cada folha, dez ninfas foram

selecionadas ao acaso, sendo o excesso eliminado com auxílio de um estilete. As regiões contendo os insetos foram demarcadas com caneta de retroprojeter de ponta de 1 mm, para facilitar o registro e controle dos dados. O pecíolo foi envolvido em algodão umedecido com água destilada, o qual foi umidificado diariamente, para evitar o ressecamento precoce do vegetal (Figura 2).



Figura 2. Folhas com ninfas de 2° e 3° ínstaes de *Aleurocanthus woglumi*.

Os testes foram realizados em placas de Petri (15 x 90 mm) contendo uma camada de papel filtro circular esterilizado e umedecido com água destilada, onde foi colocada uma folha de citros por placa. As suspensões contendo 1×10^7 conídios/mL dos isolados *B. bassiana* (IBCB 66), *M. anisopliae* (IBCB 425), *L. muscarium* (IBCB 537), *F. proliferatum* (MGSS 61) e *P. lilacinum* (MGSS 136) foram pulverizadas com “airbrush” em volume de 150 μ L por folha, sob pressão de 69 kPa com distância de 5 a 10 cm do bico para a planta (Figura 3). Em seguida, as placas foram cobertas com filme plástico, perfuradas e incubadas em BOD ($25^\circ \pm 1^\circ$ C, $86 \pm 2\%$ e fotofase de 12 horas) durante sete dias. A mortalidade foi avaliada diariamente e anotada com base nos insetos que apresentaram crescimento micelial externo ou esporulação.

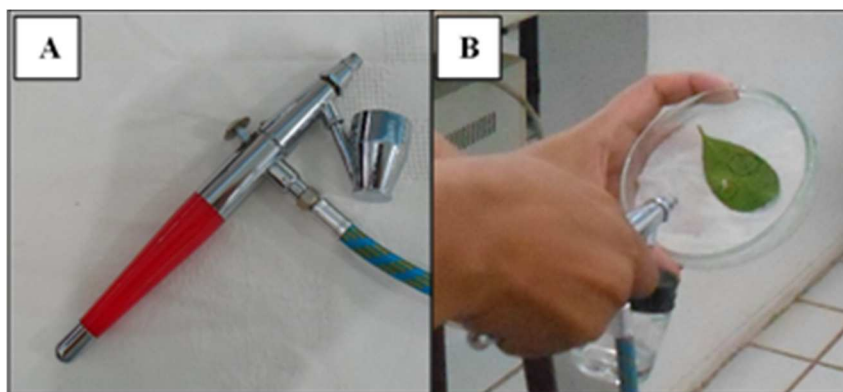


Figura 3. Pulverizador “airbrush” (A); pulverização das concentrações sobre as ninfas de *Aleurocanthus woglumi* (B).

Neste experimento, avaliou-se somente a mortalidade confirmada, pois não foi possível quantificar as ninfas mortas e não esporuladas, pela falta de mobilidade das mesmas. O único sintoma de micose observado foi o desenvolvimento de micélio externo sobre os cadáveres (Figura 4). No entanto, algumas ninfas também apresentaram o tegumento flácido com pigmentação leitosa, provocada provavelmente pelos metabólitos secundários produzidos por esses fungos.

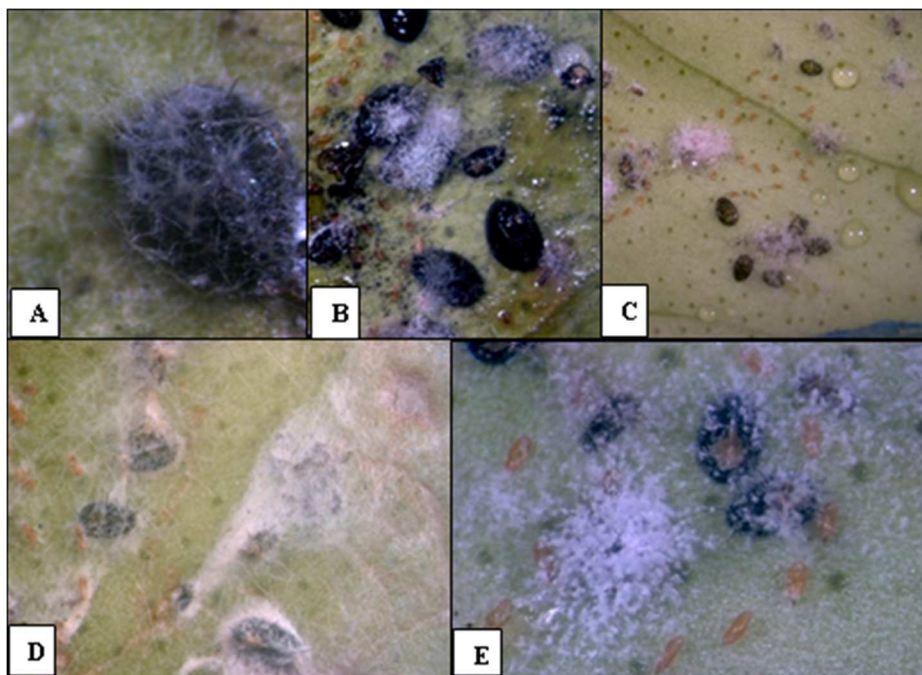


Figura 4. Ninfas de *Aleurocanthus woglumi* com crescimento micelial e esporulação de *Beauveria bassiana* (IBCB 66) (A), *Metarhizium anisopliae* (IBCB 425) (B), *Lecanicillium muscarium* (IBCB 537) (C), *Fusarium proliferatum* (MGSS 61) (D) e *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136) (E).

Os cadáveres foram transferidos diretamente para placas de Petri contendo algodão úmido (câmara úmida) e colocados em câmara de germinação tipo BOD ($25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas) por dez dias, para confirmar a mortalidade causada pelos patógenos através do crescimento micelial e colonização do fungo (Figura 5). Posteriormente foi realizado o reisolamento dos fungos, pela transferência das estruturas fúngicas para meio BDA para crescimento da colônia e identificação do fungo. O álcool não foi utilizado na desinfestação externa das ninfas, pois poderia inviabilizar o fungo, visto que após a sua entrada para o interior do cadáver, por meio de eventuais fissuras no tegumento provocadas pelo manuseio do cadáver, poderiam impedir que o fungo esporulasse.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (fungos) e quatro repetições, sendo cada repetição representada por dez ninfas. As ninfas do tratamento testemunha foram pulverizadas com água destilada estéril mais espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,01%.

3.4 Estimativa da concentração letal 50 (CL₅₀) e do tempo letal médio 50 (TL₅₀) do fungo *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136)

A partir dos resultados obtidos no teste de patogenicidade, todos os isolados testados se mostraram promissores no controle de ninfas de *A. woglumi*, sendo assim, a escolha do patógeno local, *P. lilacinum* (MGSS 136) para ser utilizado nos demais testes, levou em consideração alguns fatores:

- O ambiente determina o biótipo dos patógenos, pois a virulência e agressividade do fungo varia de acordo com a espécie do hospedeiro e a região geográfica, fatores considerados determinantes no momento da escolha deste fungo. A espécie foi um dos patógenos isolados do hospedeiro *A. woglumi*, o que contribui para obtenção de isolados com ampla variabilidade quanto ao grau de virulência.
- O patógeno foi proveniente de uma região com grande intensidade de insolação, possuindo desta forma a capacidade em tolerar os efeitos deletérios da radiação ultravioleta, tendo em vista que, a mosca-negra-dos-citros encontra condições ideais de desenvolvimento entre temperaturas de 28 e 32° C e umidade relativa de 70 a 80%, havendo assim a necessidade da seleção de isolados adaptados a estas condições para que seu controle seja efetivo.
- A produção de grande quantidade de inóculo desse fungo em meios sólidos (substrato de arroz), evidenciou sua habilidade de crescimento e esporulação.
- A escolha do fungo também foi fundamentada na existência no mercado de um produto comercial, Nemat® (BRASIL, 2015), à base do fungo objeto deste trabalho.

Para a determinação da CL₅₀ e TL₅₀, foram utilizadas folhas de plantas da variedade limão Tahiti, coletadas diretamente no campo, na mesma propriedade do experimento anterior. Os bioensaios para avaliação da virulência foram

realizados em condições de laboratório, sendo utilizadas folhas com ninfas, avaliando-se a mortalidade das ninfas de segundo e terceiro ínstaes da mosca-negra-dos-citros. Em cada folha, dez ninfas foram selecionadas ao acaso, sendo o excesso eliminado com auxílio de um estilete. As regiões contendo os insetos foram demarcadas com caneta de retroprojctor de ponta de 1 mm, para facilitar o registro e controle dos dados. O pecíolo foi envolvido em algodão umedecido com água destilada estéril, o qual foi umidificado diariamente, para evitar o ressecamento precoce do vegetal.

Os testes foram realizados em placas de Petri (15 x 90 mm) contendo uma camada de papel filtro circular esterilizado e umedecido com água destilada, onde foi colocada uma folha de citros por placa. As suspensões foram pulverizadas com o “airbrush” em volume de 150 uL por folha sob pressão de 69 kPa com distância de 5 a 10 cm. Em seguida, as placas foram cobertas com filme plástico perfurado e incubadas em BOD ($25 \pm 1^\circ \text{C}$, $86,1 \pm 2\%$ e fotofase de 12 horas) e a mortalidade anotada com base nos insetos que apresentaram crescimento micelial externo ou esporulação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Cada tratamento foi representado por uma concentração 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL, com quatro repetições, sendo cada repetição representada por dez ninfas. As ninfas do tratamento testemunha foram pulverizadas com água destilada estéril mais espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,01%. As avaliações foram diárias, totalizando sete dias, registrando-se a mortalidade de ninfas em cada folha. Para a confirmação da mortalidade foi utilizada a mesma metodologia do experimento anterior.

A partir dos dados de mortalidade confirmada estimou-se a CL_{50} , empregando-se a análise de Probit.

3.5 Compatibilidade de agrotóxicos utilizados na citricultura sobre o fungo entomopatogênico *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136) em condições de laboratório e semicampo

3.5.1 Avaliação em condições de laboratório

O efeito de oito produtos fitossanitários, dentre eles o Ampligo (Syngenta e Du Pont), Kohinor 200 SC (Bayer), Provado 200 SC (Bayer), utilizados na cultura do citros para o controle da mosca-negra-dos-citros e os produtos Recop (Atar do Brasil), Iharol (Iharabras), Talstar 100 EC (FMC Química do Brasil) e Stimulate (Stoller) utilizados no manejo fitossanitário dos citros e o Neenmax (Insetimax) foram avaliados sobre o fungo *P. lilacinum* (MGSS 136) analisando-se o efeito sobre o crescimento vegetativo, conidiogênese e viabilidade do fungo. O ingrediente ativo, formulação, grupo químico, classe de uso e dose dos respectivos produtos comerciais estão descritos na Tabela 2.

A adição dos produtos em 100 mL de meio de cultura BDA foi realizada mantendo as concentrações recomendadas para a cultura, proporcionalmente ao volume do meio, com o mesmo ainda líquido, a uma temperatura próxima a 40°C. Em seguida, o meio foi vertido em placas plásticas de Petri estéreis de 15 x 90 mm, sendo a inoculação dos fungos realizada após a sua solidificação.

Tabela 2. Produtos fitossanitários utilizados na cultura do citros no manejo de doenças e pragas, de acordo com as doses recomendadas para campo segundo lista de produtos registrados para a cultura pelo MAPA.

NOME COMERCIAL (concentração do i.a)	FORMULAÇÃO	GRUPO QUÍMICO	CLASSE	D.R ³
Ampligo® (clorantraniliprole 100 g/L lambda-cialotrina 50 g/L)	Solução Concentrada	Antranilamida + Piretroide	Inseticida de contato e ingestão	10 mL/100 L de água
Kohinor® (imidacloprido 200 g/L)	Solução concentrada	Neonicotinoide	Inseticida sistêmico de contato e ingestão	20 mL/100 L de água
Provado® (imidacloprido 200 g/L)	Solução concentrada	Neonicotinoide	Inseticida sistêmico	20 mL/100 L de água
Recop® (oxicloreto de cobre 840 g/kg)	Pó molhável	Inorgânico	Fungicida/Bactericida	250 g/100 L de água
Iharol ® (óleo mineral 760 g/L)	Concentrado emulsionável	Hidrocarbonetos Alifáticos	Inseticida/Acaricida/ Adjuvante	1 L/100 L de água
Talstar® (bifentrina 100 g/L)	Concentrado emulsionável	Piretroide	Inseticida/Acaricida de contato e ingestão	20 mL/100 L de água
Stimulate® (ácido 4-indol-3- ilbutírico 0,05 g/L ácido giberélico 0,05g/L cinetina 0,09 g/L)	Concentrado solúvel	Ácido Indolalcanoico + Giberelina + Citocinina	Regulador de Crescimento Vegetal	1 L/ha
Neenmax® ¹ (azadiractina 1,2 g/L)	Outros líquidos para aplicação direta	Tetranortriterpenoide	Inseticida	15 mL/ 1 L de água

¹Produto não registrado para a citricultura

²i.a = ingrediente ativo

³D.R = dose recomendada

Foram preparadas cinco placas por tratamento, sendo a inoculação realizada por meio de uma alça de platina, em três pontos equidistantes por placa, totalizando 15 colônias de fungo, das quais seis foram escolhidas aleatoriamente, resultando assim, em seis repetições por tratamento. O tratamento testemunha foi representado pelo meio de cultura sem a adição dos produtos. Após a inoculação dos fungos, as placas foram mantidas em câmaras tipo BOD para promover a incubação a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas, por sete dias. Após esse período, foi realizada a medição do diâmetro das colônias em dois sentidos perpendiculares, obtendo o diâmetro médio. Para isso foi utilizada uma régua em cm para avaliação do crescimento vegetativo. Em seguida, para avaliação da conidiogênese, essas colônias foram retiradas das placas, com o auxílio de um bisturi, juntamente com o meio de cultura, e transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,1%. Para promover a desagregação dos conídios do meio de cultura realizou-se vigorosa agitação, em um agitador mecânico tipo vórtex, sendo então realizadas as contagens do número de conídios em microscópio óptico, com o auxílio de câmara de Neubauer.

A viabilidade dos conídios foi avaliada, por meio da técnica de microcultivo. Foram contados conídios germinados e não germinados, estabelecendo-se a porcentagem de germinação. Cada lâmina correspondeu a uma repetição, confeccionando-se três lâminas.

Outras seis colônias foram escolhidas aleatoriamente e mantidas em câmara tipo BOD por mais sete dias, totalizando 14 dias. Após esse período, foi realizada a medição em dois sentidos perpendiculares, obtendo o diâmetro médio das colônias para reavaliar o crescimento vegetativo.

Para a avaliação da viabilidade e crescimento vegetativo, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e para a avaliação da conidiogênese as médias foram comparadas pelo teste não paramétrico de Nemenyi a 5% de probabilidade. Foi também realizado o cálculo do Índice Biológico (IB) para a classificação da toxicidade de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos (ROSSI-ZALAF et al., 2008), que permite a classificação dos produtos em tóxicos (0 - 41); moderadamente tóxico (42 - 66) e compatível (>66). O cálculo do IB é realizado através da fórmula:

$$IB = 47[CV] + 43[ESP] + 10 [GER] / 100$$

Onde:

IB: Índice Biológico

CV: Porcentagem do crescimento vegetativo da colônia após sete dias, em relação à testemunha;

ESP: Porcentagem da esporulação das colônias após sete dias, em relação à testemunha;

GER: Porcentagem de germinação dos conídios após 24 horas.

3.5.2 Avaliação em condições de semicampo

Os mesmos produtos analisados no teste de compatibilidade em condições de laboratório (Tabela 2), foram testados em condições de semicampo, em casa de vegetação. Foram utilizadas mudas de limão Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck] de 70 cm, com aproximadamente 15 meses de idade.

Os produtos, as suspensões fúngicas e a testemunha foram aplicados com pulverizador costal manual, modelo Wilko Water Sprayer Nozzle, de capacidade 8L e pressão máxima de trabalho em torno de 600 kPa.

Para avaliação da compatibilidade em semicampo, as mudas foram pulverizadas com os produtos e o patógeno *P. lilacinum* de três formas diferentes, quais sejam: I) primeiramente com os agrotóxicos e em seguida o isolado do fungo MGSS 136; II) primeiramente o fungo e posteriormente os agrotóxicos e; III) o agrotóxico e o patógeno foram aplicados juntos em uma calda preparada imediatamente antes da pulverização. Cada produto representou um tratamento contendo três repetições. Cada repetição, por tratamento, foi representada por uma planta.

Foram pulverizados, em cada muda por tratamento, 100 mL da solução com o produto, aguardando-se 2 horas para secagem completa da calda sobre a planta e 100 mL da suspensão fúngica na sua CL_{50} ($4,76 \times 10^7$ conídios/mL). Nos tratamentos com calda a suspensão foi preparada em 100 mL. As mudas foram mantidas em estufa telada e, após as pulverizações, 24, 48 e 72 horas, um ramo foi coletado ao acaso de cada uma das três mudas, os quais foram lavados com 100 mL de uma solução contendo água destilada esterilizada com espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,1%, em potes plásticos, de volume de 500 mL (11 x 7,5 cm), previamente esterilizados com luz

UV por 24 horas. Em seguida, 0,1 mL da suspensão obtida foi inoculada e espalhada com alça de Drigalsky, em nove placas plásticas de Petri estéreis de 15 x 90 mm, por tratamento, contendo meio BDA acrescido de pentabiótico (Figura 5).



Figura 5. Pulverização das plantas (A); plantas mantidas em casa de vegetação (B); lavagem das plantas (C); plaqueamento da suspensão (D e E) e incubação das placas em câmara de germinação tipo BOD (F).

As placas foram incubadas durante sete dias a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas. Após esse período, foi feita a contagem de colônias para determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito tratamentos (agrotóxicos) e três repetições, sendo cada repetição representada por uma planta. O tratamento controle constou da aplicação do patógeno isoladamente e a testemunha absoluta foi pulverizada apenas com água mais espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,1%.

3.6 Dados climáticos

Os dados diários, referentes ao período de realização do experimento em semicampo, temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (%) e de precipitação pluviométrica (mm) (Tabela 3), foram obtidos junto ao Laboratório de

Meteorologia do Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão por intermédio de uma plataforma de dados meteorológicos, ID 82280, instalada na cidade de São Luís - MA de coordenadas geográficas: latitude 2° 35' S, longitude 44° 12' W e altitude de 62 m em relação ao nível do mar.

Tabela 3. Dados da variação de temperatura e umidade relativa durante a realização do experimento de compatibilidade em semicampo, São Luís - MA.

Dia	Temperatura (°C)	Umidade relativa do ar (%)
16/12/15	28,50	73,79
17/12/15	28,71	73,42
18/12/15	28,11	76,67
19/12/15	28,75	73,29
20/12/15	28,67	73,71

Fonte: NUGEO (2016).

Na casa de vegetação, a temperatura máxima variou de 29 a 40°C, a mínima ficou entre 19 e 27° C e a umidade relativa máxima variou entre 73 e 78 % e a mínima entre 25 e 59 %.

3.7 Análise dos dados

Todos os dados do trabalho foram submetidos a análise de variância (ANOVA).

Para o bioensaio de seleção de isolados, as médias foram comparadas pelo teste não paramétrico de Nemenyi a 5% de probabilidade e na análise do tempo mediano, os dados foram submetidos ao teste não paramétrico Log-Rank.

A virulência foi avaliada pelo método de Probit, determinando CL₅₀ e TL₅₀.

Nos testes de compatibilidade *in vitro*, apenas os dados referentes a viabilidade de conídios foram transformados em $\arcsin \sqrt{p/100}$. As médias de crescimento vegetativo e viabilidade foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de

probabilidade. No caso da avaliação da conidiogênese, as médias foram comparadas pelo teste não paramétrico de Nemenyi a 5%.

Para os testes de compatibilidade em semicampo, as médias foram comparadas pelo teste não paramétrico de Nemenyi a 5% de probabilidade

Todas as análises foram realizadas no software SAS System, versão 8.2 (SAS, 2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Patogenicidade dos isolados de *Beauveria bassiana* (IBCB 66), *Metarhizium anisopliae* (IBCB 425), *Lecanicillium muscarium* (IBCB 537), *Fusarium proliferatum* (MGSS 61) e *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136) sobre ninfas de *Aleurocanthus woglumi* em laboratório

Todos os fungos aplicados na concentração 1×10^7 conídios/mL mostraram-se virulentos às ninfas de *A. woglumi*, comprovada pelo reisolamento dos isolados obtidos em meio BDA. Os dados relativos ao número médio de ninfas mortas não apresentaram diferença significativa, apenas os isolados *M. anisopliae* (IBCB 425) e *P. lilacinum* (MGSS 126) diferiram da testemunha (Tabela 4).

O tempo de vida das ninfas de *A. woglumi* após receberem as pulverizações com as suspensões fúngicas, foi demonstrado em Tempo Letal (TL₅₀), indicando assim a intensidade com que o patógeno causa a enfermidade. As ninfas apresentaram uma sobrevivência de 1,5 a 4,5 dias, sendo o isolado IBCB 537, o que diferiu significativamente dos demais isolados, apresentando o maior TL₅₀, 4,5 dias (Tabela 4).

Tabela 4. Número médio de ninfas mortas aos sete dias e tempos letais (dias) de *Aleurocanthus woglumi* por fungos entomopatogênicos. (T= 25±1°C; UR= 70±10%; fotofase de 12 horas).

Isolados	Espécie	Nº de ninfas mortas (± EP) ¹	TL ₅₀ (dias) ²
IBCB 66	<i>Beauveria bassiana</i>	8,75 ± 0,95 ab	1,5 a
IBCB 425	<i>Metarhizium anisopliae</i>	10,00 ± 0,00 a	3,0 b
IBCB 537	<i>Lecanicillium muscarium</i>	7,25 ± 2,14 ab	4,5 c
MGSS 61	<i>Fusarium proliferatum</i>	9,00 ± 1,00 ab	2,0 ab
MGSS 136	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	10,00 ± 0,00 a	2,0 ab
Testemunha		0,00 ± 0,00 b	-
		CV (%) = 53,33	χ² = 40,05

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste não paramétrico de Nemenyi a 5% de probabilidade; EP = erro padrão

²Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste não paramétrico de Log-Rank
CV = Coeficiente de variação; χ²= Qui quadrado.

Mascarin et al. (2013) avaliaram alguns isolados de *B. bassiana* e de *L. muscarium* (1 x 10⁷ conídios/mL) sobre ninfas de *B. tabaci* e observaram que os isolados de *B. bassiana* foram os mais patogênicos (71 – 86% de mortalidade com 8 dias), enquanto que o isolado de *L. muscarium* demonstrou ser menos patogênico (mortalidade > 55%) às ninfas quando comparado ao demais fungos testados, resultado análogo ao deste trabalho, com o isolado IBCB 537, mas Cuthbertson e Walters (2005) relataram que a aplicação 1 x 10⁷ conídios/mL após sete dias ocasionou a morte de mais de 90% das ninfas de *B. tabaci* testadas, mostrando o potencial de *L. muscarium* como importante agente de controle do aleiroídeo.

Em outros estudos utilizando diferentes isolados do fungo *Isaria* sp. (1 x 10⁷ conídios/mL) sobre *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae), Passos et al. (2014) verificaram uma sobrevivência de 2,0 a 3,9 dias. Entretanto, Vital et al. (2012), avaliando a virulência dos fungos *B. bassiana*, *I. fumosorosea* e *Lecanicillium* spp. sobre ninfas de segundo ínstar de *B. tabaci*, na concentração de 1 x 10⁷ conídios/mL, observaram que o tempo de sobrevivência foi de 4,5 a 5,5 dias.

As ninfas de *A. woglumi* foram suscetíveis aos isolados IBCB 66, IBCB 425, IBCB 537, MGSS 61 e MGSS 136 (Tabela 4) (Figura 6), verificando-se

mortalidades acima de 70% dos insetos testados, evidenciando a ação patogênica dos fungos em teste.

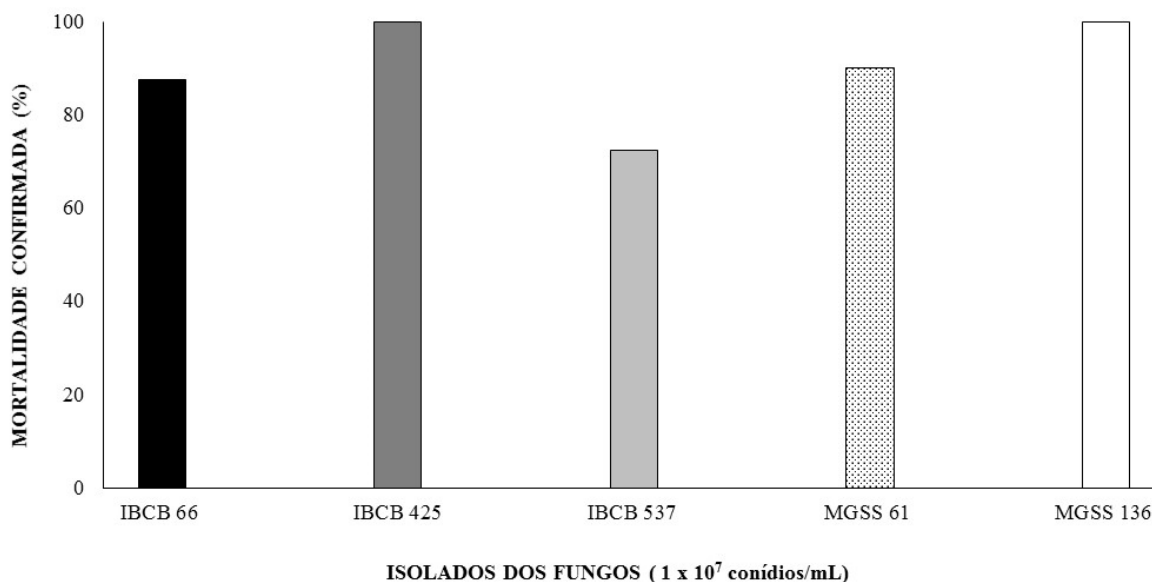


Figura 6. Mortalidade confirmada de ninfas de *Aleurocanthus woglumi* com os isolados de *Beauveria bassiana* (IBCB 66), *Metarhizium anisopliae* (IBCB 425), *Lecanicillium muscarium* (IBCB 537), *Fusarium proliferatum* (MGSS 61) e *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136), sete dias após a inoculação (T= 25±1°C; UR= 70±10%; fotofase de 12 horas).

Os resultados utilizando ninfas de segundo e terceiro ínstaes e aplicando os isolados IBCB 66 e IBCB 425, se assemelham aos verificados por Potrich et al. (2011), após sete dias de avaliação, em que os isolados de *B. bassiana* Unioeste 47 e Unioeste 57 (1 x 10⁹ conídios/mL) apresentaram controle de 84,1% e 76,8% e o isolado Unioeste 43 de *M. anisopliae*, causaram 71 % de mortalidade confirmada sobre ninfas *B. tabaci*.

Em trabalho realizado por Ramos et al. (2004), também foram encontrados resultados equivalentes, onde as ninfas infectadas por *B. bassiana* apresentaram até 72 % de mortalidade e para *M. anisopliae* a mortalidade de *B. tabaci* variou de 34% a 90%, após cinco dias da inoculação de 1 x 10⁷ conídios/mL. Entretanto, para o fungo *P. lilacinum*, os autores relataram baixa patogenicidade para as ninfas, pois os índices de mortalidade não ultrapassaram 48%, quando comparados ao demais fungos, contrariando os resultados deste trabalho para o isolado MGSS 136, no qual as ninfas obtiveram 100% de mortalidade. Todavia, Fiedler e Sosnowska (2007) mostraram a

eficiência de *P. lilacinum* sobre ninfas de 3° e 4° ínstaes de *Trialeurodes vaporariorum*, após 7 dias de aplicação do agente na concentração 1×10^6 esporos/mL, ocasionando 84% de mortalidades das ninfas avaliadas, concordando com Wakil et al. (2012), ao relatar a efetividade do fungo sobre *Aphis gossypii*.

Veloze (2015), avaliando a patogenicidade de diferentes isolados de *Fusarium* spp. sobre adultos de *Thaumastocoris peregrinus* detectou que *F. proliferatum* (10^8 conídios/mL) foi a que causou maior mortalidade dos insetos com valores de até 89% após 7 dias de inoculação, confirmando sua ação patogênica, valores esses que se assemelham aos deste bioensaio, os quais alcançaram 90% de mortalidade. Lazo (2012), também encontrou resultados similares após 6 dias de inoculação, relatando 100% de mortalidade confirmada de adultos do percevejo-bronzeado.

Os resultados de mortalidade e sobrevivência confirmaram a patogenicidade dos isolados de *B. bassiana* (IBCB 66), *M. anisopliae* (IBCB 425), *L. muscarium* (IBCB 537), *F. proliferatum* (MGSS 61) e *P. lilacinum* (MGSS 136) sobre as ninfas de mosca-negra-dos-citros. Os patógenos ocasionaram percentuais elevados de mortalidade em reduzido período de tempo, sendo eficientes para o uso no controle microbiano das ninfas do inseto, mas com uma ressalva, o isolado *Fusarium proliferatum* (MGSS 61) deve ser melhor estudado e testado quanto à sua possível utilização no controle biológico, pois de acordo com Lazo (2012), devido a predominância de várias espécies de *Fusarium* fitopatogênicas em relação às entomopatogênicas, é indispensável avaliar o potencial fitopatogênico do isolado para que ele possa ser utilizado na experimentação em condições de campo, sem que ocorram danos às plantas.

A patogenicidade dos isolados testados neste trabalho as ninfas de *A. woglumi* pode ser atribuída a diversos fatores de acordo com Alves (1998), como a variabilidade genética das linhagens, produção de enzimas, toxinas e ácidos orgânicos que podem estar envolvidos na patogênese e virulência, aderência, velocidade de germinação dos conídios e consequentemente penetração na cutícula do inseto.

Os resultados também podem estar relacionados ao muco produzido por espécies como *Lecanicilium* spp., que de acordo com Leger (1993) apresentam propriedades antidessecantes e protegem os conídios dos efeitos tóxicos dos polifenóis presentes no hospedeiro. Além disso, a composição cuticular do inseto pode ter afetado o processo de adesão e germinação dos conídios, pois as ninfas apresentam corpo menos esclerotizado, facilitando a ação do patógeno. Segundo Buckner, Hagen e Nelson (1999), a cutícula dos aleirodídeos é formada por uma espessa camada de lipídios

de cadeia longa e ésteres de cera que podem tanto facilitar, por ser fonte de nutrientes para alguns fungos, como prejudicar o processo de colonização por ser uma barreira física para a penetração do tubo germinativo.

A maioria dos isolados testados, exceto o patógeno *L. muscarium* (IBCB 537), se comportaram como patógenos rápidos sobre o hospedeiro, realizando o controle em curto período de tempo, sendo esta uma característica importante e desejável em uma estratégia de introdução inundativa, principalmente em se tratando de espécies que podem ser transmissoras de vírus em algumas culturas, como no caso dos aleirodídeos, tornando-se necessário o controle imediato da praga. De acordo com Loureiro (2004), o período que os fungos entomopatogênicos levam para provocar a morte de uma determinada espécie varia em função de fatores como a espécie do hospedeiro e seu nível de desenvolvimento dentro de uma mesma família.

4.2 Concentração letal 50 (CL₅₀) e tempo letal médio 50 (TL₅₀) do fungo *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136)

O fungo *P. lilacinum*, isolado MGSS 136 mostrou-se virulento às ninfas de *A. woglumi* em todas as concentrações testadas, demonstrando uma tendência de aumento da mortalidade para as concentrações crescentes (Figura 7). Fargues e Rodrigues-Rueda (1980) relataram que a mortalidade do hospedeiro normalmente apresenta correlação positiva com a concentração de conídios.

Em ensaios realizados com o fungo *B. bassiana* e ninfas de *Diaphorina citri*, Pinto et al. (2012) confirmaram que as maiores concentrações 5×10^8 e 1×10^9 foram as que atingiram os maiores índices de mortalidade confirmada 96,3 e 96,8%. Resultados corroborados por Angelo et al. (2012), onde as maiores concentrações testadas de *P. lilacinum* 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL proporcionaram as maiores mortalidades ao final de vinte dias de avaliações. Ao testarem diferentes isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre larvas de *Alphitobius diaperins* (Coleoptera: Tenebrionidae) Rohde et al. (2006) observaram que as menores concentrações 1×10^5 e 1×10^6 conídios/mL provocaram baixa mortalidade, já nas concentrações de 1×10^7 , 1×10^8 e 1×10^9 as mortalidades chegaram a 100 % após 10 dias de inoculação dos isolados.

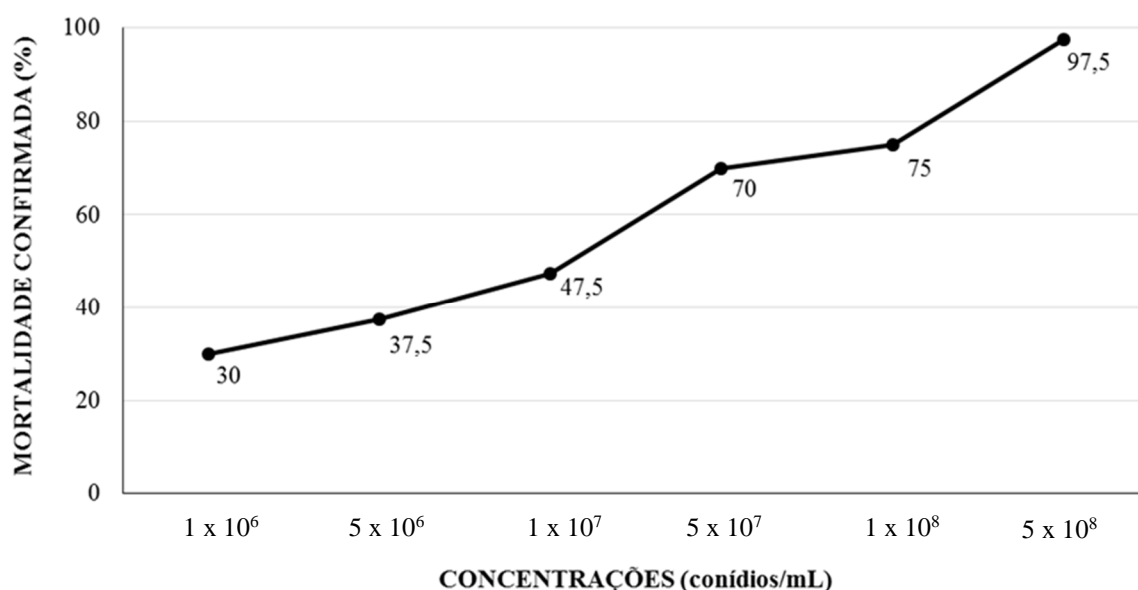


Figura 7. Mortalidade de *Aleurocanthus woglumi* sete dias após a aplicação do isolado MGSS 136 de *Purpureocillium lilacinum* nas concentrações de 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 conídios/mL. (T= $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR= $70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).

Para *P. lilacinum*, a concentração letal estimada em laboratório capaz de provocar a morte de 50% dos insetos da população de mosca-negra (CL_{50}) foi de $4,76 \times 10^7$ conídios/mL. Maior valor de CL_{50} indica menor virulência, assim um isolado menos virulento necessita de maior concentração de conídios para causar a mesma mortalidade de insetos do que um isolado mais virulento (RONDELLI et al., 2012). Este resultado pode estar relacionado à resistência das populações de *A. woglumi* utilizadas no bioensaio, pois neste estudo foram usados indivíduos da 1ª geração de selvagens, oriundos diretamente do campo e de acordo com Poprawski e Jones (2000), tais fatores podem influenciar na suscetibilidade do inseto.

Potrich et al. (2011) determinaram a CL_{50} do isolado Esalq 09 de *M. anisopliae* sobre ninfas de *B. tabaci* e encontraram o maior valor ($7,8 \times 10^8$ conídios/mL) quando comparado aos demais fungos isolados utilizados no trabalho. Resultado equivalente foi encontrado por Angelo et al. (2012) ao estimar a CL_{50} de *P. lilacinum* sobre ninfas de *Rhipicephalus microplus*, encontrando a concentração de $3,54 \times 10^8$ conídios/mL vinte dias após o tratamento fúngico.

Hotaka et al. (2015) encontraram uma CL_{50} de $2,67 \times 10^5$ conídios/mL sobre fêmeas de *Thrips palmi* e o tempo letal (TL_{50}) determinado foi de 2,6 dias na maior concentração (1×10^8 conídios/mL), resultado similar ao deste bioensaio,

no qual o menor tempo letal encontrado sob condições laboratoriais foi de 3,29 dias obtidos na maior concentração (5×10^8) (Tabela 5) e Pinto et al. (2012) encontraram o tempo letal de 5,7 dias na maior concentração 1×10^9 do fungo *B. bassiana* sobre *D. citri*. No geral, houve uma correlação positiva entre os menores tempos letais causando os maiores índices de mortalidades confirmadas.

Tabela 5. Tempos letais médios (TL_{50}) em dias obtidos pela análise Probit para a mortalidade de *Aleurocanthus woglumi* pelo fungo entomopatogênico *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136) (T= $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR= $70 \pm 10\%$; fotofase de 12 horas).

TRATAMENTOS	TL_{50} (dias)	IC	X^2	gl
1×10^6	7,82	(6,28 – 11,64)	29,81	5
5×10^6	12,10	(7,79 – 40,34)	15,19	5
1×10^7	4,35	(3,91 – 4,89)	66,25	5
5×10^7	4,78	(3,24 – 10,56)	15,38	5
1×10^8	4,66	(4,21 – 5,20)	60,58	5
5×10^8	3,29	(2,76 – 3,86)	50,78	5

IC = Intervalo de confiança; gl = Grau de liberdade; X^2 = Qui-quadrado

A rapidez com que o patógeno mata seu hospedeiro de acordo com Tamai et al. (2002) é uma característica desejável para o controle de muitas pragas agrícolas, contudo não deve ser considerada como única. É imprescindível também que o isolado seja capaz de proporcionar elevada mortalidade final, possibilitando, desse modo, pulverizações menos frequentes e, conseqüentemente, redução dos custos de controle de pragas.

A mortalidade é o principal objetivo a ser alcançado com a aplicação de um agente entomopatogênico, segundo Alves (1998). Entretanto, há uma consciência crescente sobre a importância de serem considerados os efeitos tóxicos não letais. Os indivíduos que sobrevivem a exposição de um determinado produto tóxico podem ainda causar danos significativos ou, ao contrário, os indivíduos sobreviventes não podem mais causar danos e deveriam ser contados como “mortos”. Os efeitos subletais, de uma forma geral, podem se manifestar como reduções no tempo de vida, das taxas de desenvolvimento, da fertilidade, e da fecundidade, mudanças na razão sexual, e as mudanças de comportamento, tais como a alimentação, a procura, e postura. Assim, substâncias tóxicas podem exercer efeitos sutis, bem como aqueles evidentes que devem ser considerados na análise do seu impacto (STARK e BANKS, 2003).

O conhecimento da concentração ou do tempo letal segundo Haddad (1998) é muito importante, pois conduz a conclusões a respeito da virulência dos patógenos, da sensibilidade dos insetos à doença e até mesmo previsões de controle de pragas por meio de inseticidas microbianos, por isso é necessário ser cauteloso nas recomendações para campo, uma vez que microrganismos podem reagir diferentemente quando expostos a diferentes condições ambientais. Novaretti et al. (1986) na cultura da cana-de-açúcar e Hewlett et al. (1988) na cultura do tabaco contestaram a eficiência de *P. lilacinum* para o controle de nematoides em condições de campo, provavelmente devido à inadequação dos métodos de aplicação, produção de conídios e avaliação dos ensaios e a não adaptação do isolado às condições em que o trabalho foi realizado.

4.3 Compatibilidade de agrotóxicos utilizados na citricultura sobre o fungo entomopatogênico *Purpureocillium lilacinum* (MGSS 136) em condições de laboratório e semicampo

4.3.1 Avaliação em condições de laboratório

Para o parâmetro crescimento vegetativo, apenas o produto Kohinor 200 SC diferiu significativamente da testemunha, estimulando o crescimento da colônia de *P. lilacinum*, sendo o maior valor encontrado dentre os produtos. Os demais produtos também não afetaram o desenvolvimento das colônias (Tabela 6).

Em relação a esporulação, os produtos Recop e Stimulate apresentaram diferenças em relação à testemunha (Tabela 6). Todavia, não foi verificada quaisquer diferença estatística entre as médias, com os produtos Ampligo, Kohinor 200 SC, Provado 200 SC, Iharol, Talstar 100 EC e Neenmax em relação à testemunha (Tabela 6), porém houve um decréscimo na produção de conídios, quando comparado a quantidade de conídios/mL para a testemunha.

A presença dos produtos químicos no meio de cultura, nas doses recomendadas para aplicação em campo, não afetou a viabilidade dos conídios em relação a todos os produtos testados (Tabela 6), o que indica a possibilidade da utilização conjunta do controle biológico e químico nas dosagens adequadas.

Tabela 6. Valores médios de crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de colônias do isolado MGSS 136 de *Purpureocillium lilacinum* na presença de agrotóxicos utilizados na citricultura em condições de laboratório (T= 26±1°C; UR= 70±10%; fotofase de 12 horas).

Tratamentos ¹	Diâmetro (cm) ²	Conídios (x 10 ⁷) ³	Viabilidade (%) ^{2,4}
Ampligo	1,60 bc	5,35 ab	52,96 a
Kohinor	2,16 a	7,29 a	79,55 a
Provado	1,60 bc	3,26 abc	45,41 a
Recop	1,14 cd	0,02 c	33,55 a
Iharol	1,04 d	2,60 abc	50,66 a
Talstar	1,21 cd	3,31 abc	33,55 a
Stimulate	1,80 ab	1,44 bc	76,81 a
Neenmax	1,10 cd	3,98 abc	67,18 a
Testemunha	1,33 bcd	7,49 a	72,07 a

¹Ampligo = clorantranilprole + lambda-cialotrina; Kohinor = imidacloprido; Provado = imidacloprido; Recop = oxiclureto de cobre; Iharol = óleo mineral; Talstar = bifentrina; Stimulate = ácido4-indol-3-ilbutírico+ácido giberélico+cinetina; Neenmax = azadiractina.

²Para o parâmetro crescimento vegetativo e viabilidade de colônias foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si

³Para o parâmetro conidiogênese foi realizado o teste não paramétrico de Nemenyi a 5% de probabilidade. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si.

⁴Os dados foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{p/100}$.

O desenvolvimento das colônias do fungo *B. bassiana* foi avaliado por Pinto et al. (2012), os quais constataram que não houve influência do ingrediente ativo, imidacloprido, sobre o crescimento vegetativo de colônias do fungo, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho, utilizando o produto Provado 200 SC, composto do mesmo ingrediente ativo.

O crescimento vegetativo de uma cepa de *Purpureocillium* sp. foi influenciado pela ação do inseticida Engeo, composto da mistura de tiametoxam e lambda-cialotrina. Nos primeiros cinco dias de avaliação houve um decréscimo (2,4 mm) em comparação a testemunha (9,8 mm), já no décimo dia de avaliação percebeu-se um acréscimo de 4,8 cm no desenvolvimento micelial do patógeno, havendo diferença significativa entre as médias de crescimento (GALLEGO-VELÁSQUEZ, CARDONA-BUSTOS e RESTREPO-BETANCUR, 2014).

O resultado com o inseticida Kohinor, em relação ao crescimento vegetativo, pode ser explicado pelo pressuposto de que o microrganismo ao metabolizar

os princípios tóxicos do ingrediente ativo, num mecanismo de resistência fisiológica, provoque a liberação no meio de cultura de moléculas que possam utilizar como nutrientes secundários, promovendo seu crescimento vegetativo. Outra possibilidade é que o fungo utilize todo o seu esforço reprodutivo na presença de um princípio tóxico que altere seu ambiente, prejudicando o seu desenvolvimento, resultando, assim, em maiores níveis de crescimento vegetativo (ALVES, MOINO JR e ALMEIDA, 1998).

O tratamento com o fungicida Recop suprimiu a esporulação do entomopatógeno *P. lilacinum*. Dados estes semelhantes ao verificados por Gassen et al. (2008), ao trabalhar com o mesmo produto e o fungo *L. lecanii*. Alguns agrotóxicos podem inibir a produção de esporos sem afetar o crescimento. Ao trabalhar com *M. anisopliae*, Cintra et al. (2013) observaram que o produto proporcionou maior esporulação do fungo ($15,2 \times 10^6$ conídios/mL), superando até mesmo os valores encontrados no tratamento testemunha, que foram de $5,2 \times 10^6$ conídios/mL, resultado diferente do presente trabalho.

Conforme Alves e Lecuona (1998), a produção de conídios evidencia a capacidade do patógeno em completar todo o ciclo dentro do hospedeiro. Um isolado com elevado potencial de produção de inóculo pode ter maiores probabilidades de se manter no campo causando epizootia e também de estender o “efeito residual” da sua aplicação.

No que se refere ao produto comercial Stimulate, um regulador de crescimento vegetal composto por ácido indolcanoico, citocinina e giberelina, considerou-se o pressuposto de que alguns fungos patogênicos tem a capacidade de produzir hormônios semelhantes a estas substâncias sintéticas, o que pode ter causado um desequilíbrio no metabolismo do fungo, reduzindo o processo de esporulação.

Nunes (2008), ao avaliar a seletividade dos inseticidas Regente e Standak, ambos à base do ingrediente ativo fipronil, confirmou a compatibilidade dos produtos com *P. lilacinus*, não prejudicando a germinação de conídios *in vitro*. No entanto, Demirci e Denizhan (2010), ao testarem o efeito de diversos ingredientes ativos, dentre eles o oxiclreto de cobre, sobre a germinação de esporos de *P. lilacinum*, verificou que o produto reduziu a germinação do agente entomopatogênico.

O antagonismo do fungicida Carbovax, composto da mistura de carboxin com thiram, foi comprovado por Gallego-Velásquez, Cardona-Bustos e Restrepo-Betancur (2014) em testes com cepas de *Purpureocillium* sp., sendo o único tratamento que inibiu a germinação do fungo, discordando dos resultados deste trabalho.

Entretanto, nos demais tratamentos utilizando os produtos comerciais Engeo (tiametoxam + lambda-cialotrina), Moncut (flutolanil), Previcur (propanocarb), Terrazole (etridiazole) e Tachigaren (hymexazol) a germinação não foi prejudicada.

O processo de germinação de conídios é mais importante do que o crescimento vegetativo e a esporulação em cadáveres. A germinação corresponde a primeira etapa no desencadeamento de uma epizootia. Os conídios são os responsáveis pela reprodução e disseminação do fungo em condições de campo, ou seja, o fungo depende deste processo para infectar o hospedeiro com sucesso (KHALIL, SHAH, e NAEEM, 1985; NEVES et al., 2001; ALIZADEH et al., 2007). Deste modo, se um agrotóxico provoca diminuição substancial na germinação de esporos, pode reduzir a eficácia do entomopatógeno em direção a seu alvo. Por outro lado, o crescimento vegetativo e a conidiogênese também são importantes no que diz respeito as infecções secundárias causadas por fungos e, portanto, devem ser considerados para a virulência do fungo e persistência no meio ambiente (SCHUMACHER e POEHLING, 2012). Tais fatores estão diretamente relacionados com a abordagem de conservação para entomopatógenos em agroecossistemas.

Os produtos testados não foram prejudiciais para o crescimento micelial (Figura 8).

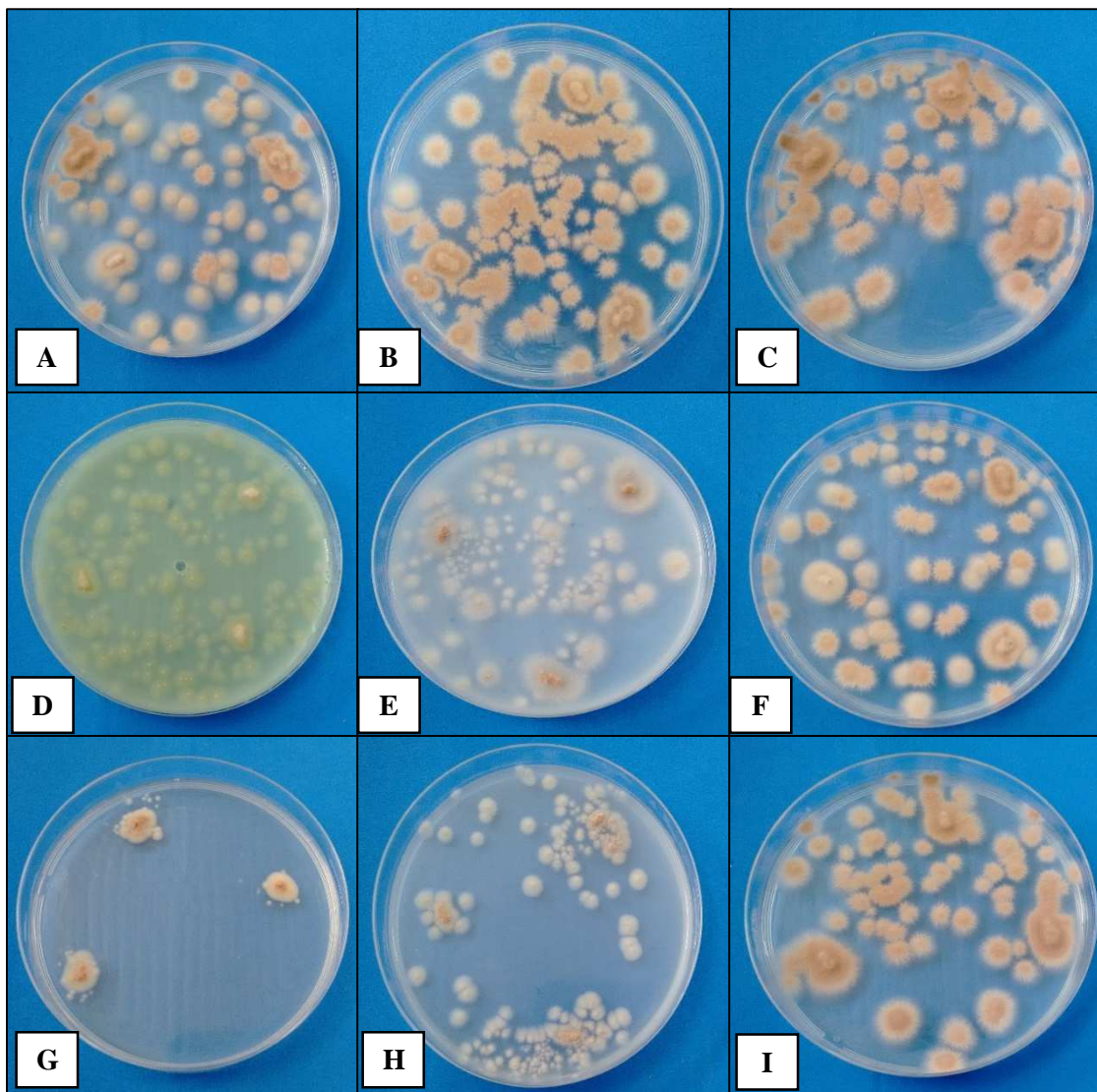


Figura 8. Crescimento do isolado MGSS 136 de *Purpureocillium lilacinum*, após 7 dias de cultivo, em meio de cultura contendo os agrotóxicos utilizados na citricultura. Ampligo (A); Kohinor (B); Provado (C); Recop (D); Iharol (E); Talstar (F); Stimulate (G); Neenmax (H) e Testemunha (I).

De acordo com valores do Índice Biológico (IB) e a classificação dos produtos fitossanitários utilizados na citricultura, em relação ao fungo *P. lilacinum*, em condições de laboratório, os produtos Ampligo, Kohinor 200 (SC), Provado 200 (SC), Talstar 100 (EC), Stimulate, Neenmax foram classificados como compatíveis e podem ser utilizados de acordo com as recomendações a nível de campo, já os produtos Recop e Iharol foram classificados como moderadamente tóxicos (Tabela 7).

Soliman (2014), trabalhando com o óleo mineral Iharol na maior dosagem (10000 ppm) avaliou o produto como tóxico para isolados de *M. anisopliae* e *F. proliferatum* e compatível com o isolado de *B. bassiana in vitro*. Silva et al. (2006)

demonstraram a compatibilidade deste óleo mineral com um isolado específico de *B. bassiana*, discordando dos resultados aqui apresentados. Estes dados confirmam que a ação dos agrotóxicos sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e da linhagem do patógeno (ALVES et al., 1998).

Em relação a eficiência de fungicidas, ao avaliar os produtos comerciais Blue copper (0,3%), Difenconazole (0,07%) e Propiconazole (0,05%) em laboratório sobre *P. lilacinum*, Kumar e Ramya (2014) relataram que as altas dosagens utilizadas no experimento não foram compatíveis com o fungo, resultados equivalentes ao deste trabalho com o fungicida Recop. Os fungicidas são normalmente relacionados como não seletivos a fungos em testes realizados *in vitro* (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

O modo de ação do ingrediente ativo, de acordo com Ghini e Kimati (2000) é um dos fatores envolvidos no nível de toxicidade dos agrotóxicos aos fungos. Por exemplo, as moléculas de oxiclreto de cobre, caracterizam-se por causarem disfunção geral nas células, afetando um grande número de processos vitais nos fungos fitopatogênicos, como a permeabilidade da membrana e inativação de proteínas e enzimas.

Tabela 7. Valores do Índice Biológico e classificação dos produtos fitossanitários utilizados na citricultura, em relação à *Purpureocillium lilacinum*, em condições de laboratório (T= 26±1°C; UR= 70±10%; fotofase de 12 horas).

Tratamentos ¹	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	
	Índice Biológico (IB)	Classificação ²
Ampligo	98	Compatível
Kohinor	130	Compatível
Provado	82	Compatível
Recop	44	Moderadamente tóxico
Iharol	59	Moderadamente tóxico
Talstar	68	Compatível
Stimulate	95	Compatível
Neenmax	69	Compatível

¹ Ampligo = clorantraniliprole + lambda-cialotrina; Kohinor = imidacloprido; Provado = imidacloprido; Recop = oxiclreto de cobre; Iharol = óleo mineral; Talstar = bifentrina; Stimulate = ácido4-indol-3-ilbutírico+ácido giberélico+cinetina; Neenmax = azadiractina.

²Classificação toxicológica: tóxicos (0 - 41); moderadamente tóxico (42 - 66) e compatível (>66).

Os testes de compatibilidade *in vitro*, segundo Rossi-Zalaf et al. (2008) são vantajosos, pois o patógeno é submetido a todos os efeitos tóxicos do produto, fornecendo informações corretas sobre a toxicidade de uma formulação, uma vez que elimina alguns eventos que ocorrem em situações de campo. Deste modo, a compatibilidade de vários agrotóxicos sobre *P. lilacinum* foi determinada com a finalidade de verificar quais apresentam maiores possibilidades de provocar interferência no controle natural de *A. woglumi* por este entomopatógeno e fornecer informações que permitam a realização de aplicações associadas entre bioprodutos e produtos fitossanitários, promovendo com isso um aumento na suscetibilidade do inseto, visto que algumas substâncias sintéticas podem atuar como estressantes, facilitando a infecção e a rápida proliferação da doença.

O maior problema desse tipo de ensaio é a falta de padronização das condições dos testes, que não permite, na maioria das vezes, que sejam feitas comparações efetivas entre produtos. As conclusões são as mais diversas possíveis, visto que os resultados variam consideravelmente, pois dependem da espécie do fungo e de sua combinação com diferentes produtos, da concentração dos ingredientes ativos e da formulação do produto. Devido a estes fatores, cada fungo e cada agrotóxico podem demonstrar resultados de compatibilidade ou incompatibilidade específicos para cada caso em particular (CASTIGLIONI, VENDRAMIN e ALVES, 2003; KLINGEN e HAUKELAND, 2006).

4.3.2 Avaliação em condições de semicampo

Com relação aos produtos fitossanitários, todos os produtos se mostraram compatíveis, não interferindo no desenvolvimento do fungo *P. lilacinum*, isolado MGSS 136. Os valores médios de unidades formadora de colônias (UFC) não diferiram significativamente entre si (Tabela 8), independentemente do tempo de coleta (Figura 10) e da forma como foram aplicados.

Tabela 8. Valores médios de unidades formadoras de colônia do isolado MGSS 136 de *Purpureocillium lilacinum*, em diferentes tempos de coleta, após aplicação de diferentes formas com os agrotóxicos utilizados na cultura do citros, em condições de semicampo.

Tratamentos ¹	Tempo de coleta		
	24 horas (\pm EP) ²	48 horas (\pm EP) ²	72 horas (\pm EP) ²
Unidades formadoras de colônia (UFC)/placa			
Ampligo - Pl	121,55 \pm 40,70 a	11,00 \pm 2,50 a	5,44 \pm 1,37 a
Pl - Ampligo	128,67 \pm 9,61 a	24,56 \pm 13,00 a	26,22 \pm 10,96 a
Ampligo + Pl	66,78 \pm 9,12 a	27,67 \pm 7,60 a	12,67 \pm 1,15 a
Kohinor - Pl	117,44 \pm 60,73 a	9,78 \pm 5,78 a	8,78 \pm 3,80 a
Pl - Kohinor	3,33 \pm 2,40 a	0,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 a
Kohinor + Pl	11,22 \pm 3,04 a	1,78 \pm 1,78 a	1,11 \pm 1,11 a
Provado - Pl	147,89 \pm 23,93 a	42,22 \pm 11,57 a	10,78 \pm 5,42 a
Pl - Provado	109,22 \pm 32,11 a	45,89 \pm 45,89 a	6,67 \pm 2,96 a
Provado + Pl	25,22 \pm 18,08 a	1,78 \pm 1,78 a	15,33 \pm 6,56 a
Recop - Pl	98,22 \pm 8,39 a	31,00 \pm 19,85 a	10,56 \pm 3,89 a
Pl - Recop	40,00 \pm 7,37 a	53,33 \pm 13,93 a	5,56 \pm 2,88 a
Recop + Pl	6,44 \pm 2,63 a	10,22 \pm 9,89 a	5,33 \pm 5,00 a
Iharol - Pl	125,77 \pm 23,25 a	27,67 \pm 10,15 a	9,67 \pm 2,31 a
Pl - Iharol	86,22 \pm 33,55 a	24,56 \pm 20,68 a	16,44 \pm 4,65 a
Iharol + Pl	21,33 \pm 12,58 a	3,44 \pm 3,44 a	15,77 \pm 4,26 a
Talstar - Pl	80,44 \pm 28,26 a	31,33 \pm 13,09 a	6,22 \pm 1,11 a
Pl - Talstar	149,1 \pm 33,40 a	31,67 \pm 5,67 a	12,33 \pm 9,94 a
Talstar + Pl	17,1 \pm 8,01 a	14,11 \pm 7,06 a	13,56 \pm 0,48 a
Stimulate - Pl	44,0 \pm 13,04 a	26,45 \pm 2,50 a	3,44 \pm 1,85 a
Pl - Stimulate	5,66 \pm 2,85 a	55,00 \pm 21,08 a	0,78 \pm 0,62 a
Stimulate + Pl	5,56 \pm 0,87 a	5,56 \pm 2,80 a	14,11 \pm 4,29 a
Neenmax - Pl	57,77 \pm 7,86 a	18,78 \pm 5,02 a	30,78 \pm 9,13 a
Pl - Neenmax	147,33 \pm 49,71 a	19,89 \pm 10,66 a	4,89 \pm 4,89 a
Neenmax + Pl	70,56 \pm 41,88 a	10,11 \pm 7,78 a	28,22 \pm 4,24 a
Controle	71,07 \pm 22,95 a	37,73 \pm 15,74 a	12,59 \pm 3,98 a
Testemunha absoluta	4,48 \pm 1,54 a	2,48 \pm 1,29 a	3,33 \pm 1,61 a
CV (%)²	91,42	115,66	96,63

¹Ampligo = clorantraniliprole + lambda-cialotrina; Kohinor = imidacloprido; Provado = imidacloprido; Recop = oxicloreto de cobre; Iharol = óleo mineral; Talstar = bifentrina; Stimulate = ácido4-indol-3-ilbutírico+ácido giberélico+cinetina; Neenmax = azadiractina.

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste não paramétrico de Nemenyi a 5% de probabilidade; EP = Erro padrão

CV = coeficiente de variação.

Pl = *Purpureocillium lilacinum*

Agrotóxico - Pl (pulverização inicial do agrotóxico seguida do fungo).

Pl - Agrotóxico (pulverização inicial do fungo seguida do agrotóxico).

Agrotóxico + Pl (pulverização associada do agrotóxico e fungo).

Controle = patógeno aplicado isoladamente.

Testemunha absoluta = água + espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,1%.

Os ingredientes ativos imidacloprido, tiametoxam, esfenvalerato, malationa e piriproxifeno foram testados por Pinto et al. (2012) sobre o fungo *B. bassiana*, sendo verificado que os produtos não afetaram o fungo nas condições de semicampo. Batista Filho, Almeida e Lamas (2001), ao avaliarem o número médio de unidades formadoras de colônias de *M. anisopliae* e *B. bassiana* em folhas de feijão, submetidas ao ingrediente ativo tiametoxam nos tempos de 24, 48 e 72 horas após a pulverização, comprovaram que o inseticida não interferiu no número médio de unidades formadoras de colônias, independentemente do microrganismo estudado.

Nas condições de campo Almeida et al. (2003) verificaram que não houve diferença significativa entre as médias nas contagens de UFC nas folhas de café, ao serem utilizados os ingredientes ativos cyproconazole com tiametoxam e endosulfan com tiametoxam sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Dados compatíveis aos obtidos neste trabalho, apesar da diferença entre os produtos e isolados analisados. Gassen (2006) ratificou que a ação dos agrotóxicos sobre o crescimento reprodutivo dos entomopatógenos pode variar em função da natureza química dos produtos, da maneira em que foram aplicados e da espécie do fungo.

Trabalhando com o fungo *I. fumosorosea* Avery et al. (2013), relataram que o fungo não deve ser aplicado no mesmo dia, em associação com fungicidas. Entretanto, Gassen (2006) afirmou que quando os agrotóxicos são aplicados posteriormente aos fungos ou juntamente com ele na calda, os produtos causariam interferência no desenvolvimento do entomopatógeno, resultados divergentes dos deste experimento.

Durante o período de avaliação, o número médio de unidades formadoras de colônias reduziu nos tempos de 48 horas e 72 horas da aplicação dos produtos. Entretanto, alguns tratamentos, entre eles Provado + PI, Iharol + PI, Stimulate + PI, Neenmax + PI e Neenmax – PI, apresentaram aumento no número médio de UFC no tempo de 72 horas (Figura 9).

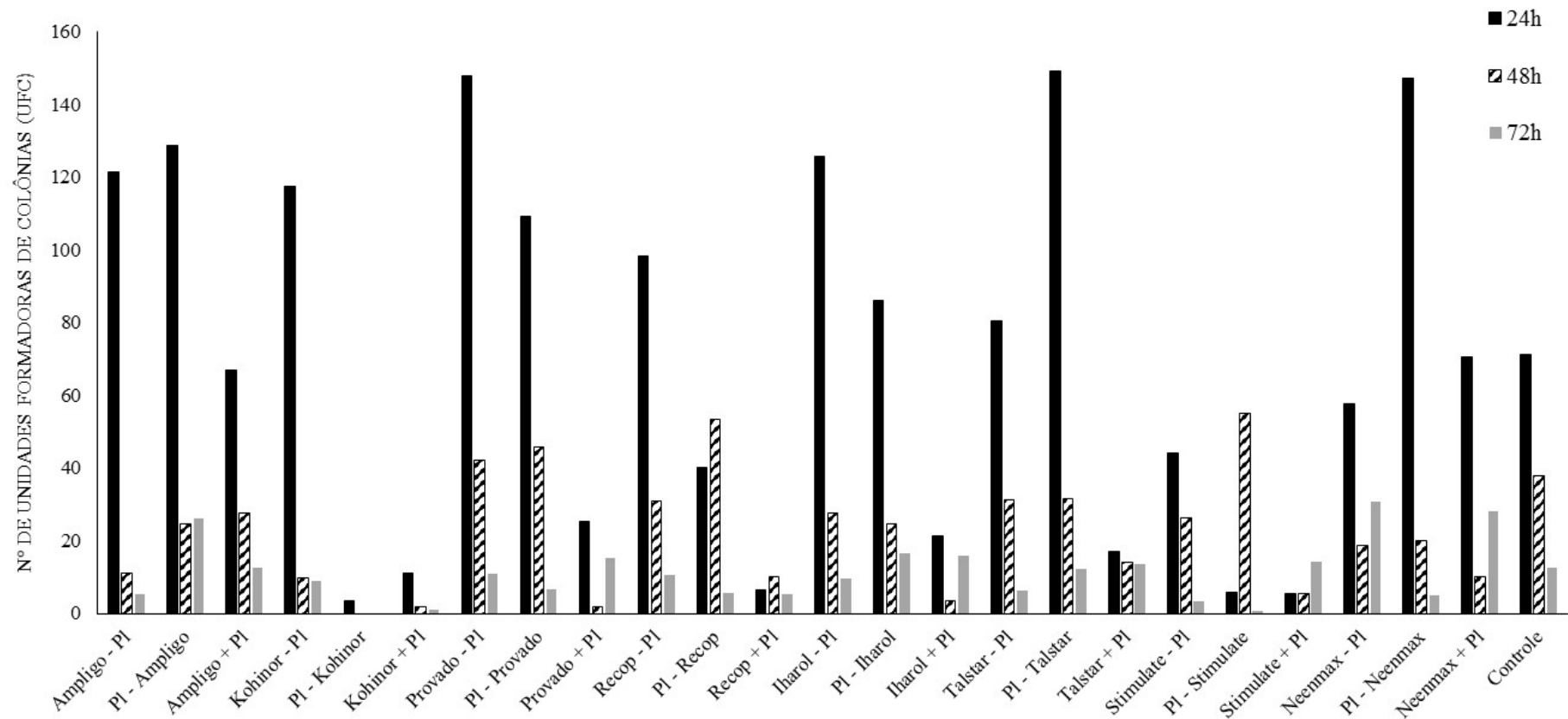


Figura 9. Variação do número de unidades formadoras de colônias (UFC) do isolado MGSS 136 de *Purpureocillium lilacinum* em diferentes aplicações ao longo das três avaliações em condições de semicampo.

McCoy et al. (1988) e Alves, Moino Júnior e Almeida (1998) atestaram que o desenvolvimento e a sobrevivência dos propágulos do fungo no campo pode variar em função de condições climáticas, como precipitação, temperatura, radiação solar e umidade relativa e do tipo de substrato em que são aplicados, como folhagem, solo, hospedeiro. Porém, Kouasse, Coderre e Todorova (2003) afirmaram que a compatibilidade de fungicidas à base de cobre pode variar, dependendo do fungo entomopatogênico testado, do tempo de aplicação e da concentração do fungicida aplicado.

Em trabalho realizado por Pinto et al. (2012), houve aumento do número médio de UFC em todos os tratamentos entre os tempos: logo após a aplicação e 7 dias, e somente a Testemunha e o tratamento com o ingrediente imidacloprido aumentaram no tempo, 7 dias para 14 dias. O aumento progressivo no número de UFC observada ao longo do tempo demonstrou a capacidade de dispersão do agente e seu potencial para causar os focos primários da doença.

Os produtos comerciais Recop e Iharol, não foram tóxicos ao fungo *P. lilacinum* quando avaliado em semicampo, discordando da afirmação negativa de toxicidade encontrada em laboratório, pois de acordo com Gassen (2006), após receber o agrotóxico, o meio sintético é vigorosamente agitado para permitir eficiente distribuição do produto, promovendo uma ação rápida e efetiva no fungo, o que provavelmente não ocorre no ambiente, além do que o contato permanente do patógeno com as altas concentrações do produto não possibilita a degradação do produto químico, principalmente pela falta de luz solar.

Os resultados em semicampo confirmam os obtidos *in vitro*, quando os produtos Ampligo, Kohinor 200 (SC), Provado 200 (SC), Talstar 100 (EC), Stimulate e Neenmax foram classificados como compatíveis. Portanto, são indicados para serem utilizados no programa de manejo integrado de pragas do citros não interferindo no inóculo potencial de *P. lilacinum*, que pode estar presente no agroecossistema, controlando naturalmente a mosca-negra-dos-citros. A compatibilidade permite a utilização conjunta de estratégias no controle da praga alvo com maior eficiência.

5 CONCLUSÕES

- Os isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium*, *Fusarium proliferatum* e *Purpureocillium lilacinum* são patogênicos às ninfas de *A. woglumi*.

- As concentrações 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 do fungo *P. lilacinum* são patogênicas às ninfas *A. woglumi*.

- Os produtos fitossanitários Ampligo (clorantraniliprole + lambda-cialotrina), Kohinor 200 SC (imidacloprido), Provado 200 SC (imidacloprido), Talstar 100 EC (bifentrina), Stimulate (ácido 4-indol-3-ilbutírico + ácido giberélico + cinetina) e Neenmax (azadiractina) nas doses recomendadas para campo, são compatíveis com *P. lilacinum*, em laboratório.

- Para *P. lilacinum* os produtos Recop (oxicloreto de cobre) e Iharol (óleo mineral) são moderadamente tóxicos sob condições laboratoriais.

- Os produtos fitossanitários Ampligo (clorantraniliprole + lambda-cialotrina), Kohinor 200 SC (imidacloprido), Provado 200 SC (imidacloprido), Recop (oxicloreto de cobre), Iharol (óleo mineral), Talstar 100 EC (bifentrina), Stimulate (ácido 4-indol-3-ilbutírico + ácido giberélico + cinetina) e Neenmax (azadiractina) não afetam o desenvolvimento do fungo *P. lilacinum* em condições de semicampo, independentemente do tempo de coleta e da forma como foram aplicados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIUCHI, D. et al. The effect of entomopathogenic *Lecanicillium* spp. (Hypocreales: Cordycipataceae) on the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 47, p. 351 – 357, 2012.

ALIZADEH, A. et al. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with several pesticides. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 9, p. 31–34, 2007.

ALMEIDA, J. E. M. et al. 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, p. 79 – 84, 2003.

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

ALMEIDA, M. C.; LHANO, M. G. Ocorrência de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Agro@mbiente Online**, Boa Vista, v. 8, n. 3, p. 424 - 427, setembro-dezembro, 2014. Disponível em: < file:///C:/Users/Fab%20C3%ADola/Downloads/1897-9382-1-PB%20(1).pdf > Acesso em: 13 dez. 2014.

- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed) **Controle microbiano de insetos**. 2. Ed., Piracicaba: FEALQ, p. 289-381, 1998.
- ALVES, S. B.; LECUONA, R. E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S. B. (Ed) **Controle microbiano de insetos**. 2. Ed., Piracicaba: FEALQ, p. 289-381, 1998.
- ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, 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. et al. Eficácia de *Beauveria bassiana*, imidacloprid e thiacloprid no controle de *Bemisia tabaci* e na incidência do BGMV. **Manejo Integrado de Plagas**, Costa Rica, n. 61, p. 31 – 36, 2001.
- ALVES, S. B. et al. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, p. 69-110, 2008a.
- ALVES, S. B. et al. O controle microbiano na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, p.21-48, 2008b.
- ALZATE, D. V.; PIEDRAHITA, O. A. G., CAYCEDO, J. L. Efecto *in vitro* de *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa ard et al. y *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams sobre el nematodo barrenador *Radopholus similis* (COBB) THORNE. **Agronomia**. v. 20, n. 2, p. 25 - 36, 2012.
- ANGELO, I. C. et al. Virulence of *Isaria* sp. and *Purpureocillium lilacinum* to *Rhipicephalus microplus* tick under laboratory conditions. **Parasitology Research**, v. 111, p. 1473-1480, 2012.
- AUSIQUE, J. J. S. **Desenvolvimento de estratégias para incorporação de fungos entomopatogênicos no manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) na cultura do citros**. 77f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, Piracicaba, 2014.
- AVERY, P. B. et al. Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) blastospores with agricultural chemicals used for management of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Insects**, v. 4, p. 694-711, 2013.

BARRA, P.; ETCHEVERRY, M.; NESCI, A. Improvement of the insecticidal capacity of two *Purpureocillium lilacinum* Strains against *Tribolium confusum*. **Insects**, v. 6, p. 206 – 223, 2015.

BATISTA FILHO, A.; OLIVEIRA, L. J.; ALVES, S.B. Compatibilidade de inseticidas químicos com entomopatógenos. **Biológico**, v.53, n.7, p.69-70, 1987.

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

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

BERGER, E. W. Natural enemies of scale insects and whiteflies in Florida. **Florida State Plant Breeding Quartely Bullatin**, v. 5, p. 141–154, 1921.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, v. 29, n. 1, p. 1-83, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 42, de 9 de dezembro de 2014. Excluir da Lista de Pragas Quarentenárias Presentes - (A2) o inseto *Aleurocanthus woglumi* (Mosca negra dos citros), constante do Anexo II da Instrução Normativa nº 41, de 1º de julho de 2008, alterado pela Instrução Normativa nº 59, de 18 de dezembro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 239, p. 6, 10 dez. 2014. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 abr. 2014.

BUCKNER, J. S.; HAGEN, M. M.; NELSON, D. R. The composition of the cuticular lipids from nymphs exuviae of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 124, n. 2, p. 201–207, 1999.

CARRION. G., DESGARENNES, D. Effect of *Paecilomyces lilacinus* in free-living nematodes to the rhizosphere associates potatoes grown in the Cofre of Perote region, Veracruz, Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 30, n. 1, p. 86 - 90, 2012.

CABI. Invasive Species Compendium. Disponível em:
<<http://www.cabi.org/isc/datasheet/4137>> Acesso em 13 jun. 2016

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

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

CASTILHO, J. D. LAWRENCE, K. S. KLOEPPER, J. W. Biocontrol of the Reniform Nematode by *Bacillus firmus* GB-126 and *Paecilomyces lilacinus* 251 on Cotton. **Plant Disease**, v. 97, n. 7, p. 967 – 976, 2013.

CAVELLO, I. A. et al. Plant growth promotion activity of keratinolytic fungi growing on a recalcitrant waste known as (Hair Waste). **Biotechnology Research International**, v. 2015, p. 1- 10, 2015.

CINTRA, E. R. R. et al. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* à cigarra do café *Fidicinoides pronoe* (Hemiptera: Cicadidae) e sua compatibilidade com agrotóxicos utilizados na cultura do cafeeiro. **Biológico**, São Paulo, v. 75, n.1, p. 63 – 70, 2013.

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

CORREIA, R. G. et al. Primeiro registro da ocorrência de mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae) em Roraima. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 5, n. 3, p. 245-248, setembro-dezembro, 2011.

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

CUNHA, M. L. A. da. **Distribuição geográfica, aspectos biológicos e controle químico da mosca negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), nas condições ambientais do Estado do Pará**. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2003.

CUTHBERTSON, A. G. S.; WALTERS, K. F. A. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus, *Lecanicillium muscarium*, against the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* under laboratory and glasshouse conditions. **Mycopathologia**, v. 160, p. 315 – 319, 2005.

DEMIRCI, F.; DENIZHAN, E. *Paecilomyces lilacinus*, a potential biocontrol agent on apple rust mite *Aculus schlechtendali* and interactions with some fungicides in vitro. **Phytoparasitica**, v. 38, p. 125-132, 2010.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DEPUECH, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of entomology**, Stanford, v.52, p.81-106, 2007.

DIETZ, H. F., ZETEK, J. The blackfly of citrus and other subtropical plants. USDA Bulletin, v. 885, p. 1-55, 1920.

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

FARIAS, P. R. S. et al. Ocorrência de *Aleurocanthus woglumi* em área de reflorestamento com mogno africano na Amazônia Oriental. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 53, n. 1, p. 85-88, 2011.

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

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

FIGUEREDO, L. C. **Manejo fitossanitario de la mosca prieta de los cítricos (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) en las condiciones de la empresa de cítricos sola**. 63 f. Dissertação (Maestría en Fruticultura Tropical) – Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical, La Havana, Cuba, 2002.

FOERSTER, L. A. Seletividade de inseticidas a predadores e parasitoides. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA, S. F.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e predadores**. Manole, São Paulo. 2002, 635 p.

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

FUNDECITRUS. Fundo de defesa da citricultura. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/>>. Acesso em: 07 jan. 2015.

GALLEGO-VELÁSQUEZ, J.; CARDONA-BUSTOS, N. L.; RESTREPO BETANCUR, F. Compatibilidad del hongo entomopatógeno *Purpureocillium* sp. cepa UdeA0106 con biocontroladores y productos fitosanitarios utilizados en cultivos de crisântemo. **Actualidades Biológicas**, v. 36, n. 101, p. 173-187, 2014.

GARCIA, M de. O. **Utilização de fungos entomopatogênicos para o controle de *Orthezia praelonga* (Sternorrhyncha: Ortheziidae)**. 57f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, Piracicaba, 2004.

GASSEN, M. H. **Patogenicidade de fungos entomopatogênicos para o psíldeo da goiabeira *Triozeida* sp. (Hemiptera: Psyllidae) e compatibilidade de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre estes agentes de controle biológico**. 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

GASSEN, M. H. et al. Efeito de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 327 – 342, 2008.

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

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

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

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

HADDAD, M. L. Utilização do Polo-PC para análise de Probit. In: ALVES, S. B. (Ed) **Controle microbiano de insetos**. 2. Ed., Piracicaba: FEALQ, p. 289-381, 1998.

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

HEWLETT, T. E. et al. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 20, n. 4, p. 578-584, 1988.

HOTAKA, D. et al. Efficacy of *Purpureocillium lilacinum* CKPL-053 in controlling *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) in orchid farms in Thailand. **Applied Entomology and Zoology**, v. 50, p. 317 – 329, 2015.

HOY, M. A.; SINGH, M.; ROGERS, M. E. Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 93, n. 1, p. 24 – 32, 2010.

HUMBER, R. A. Collection of entomopathogenic fungal cultures: Catalog of strains, U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service. **Bulletin ARS-110**, 1992.

HUNTER et al. Broad spectrum potential of *Isaria fumosorosea* against insect pests of citrus. **Florida Entomologist**, v. 94, n. 4, p. 1051 – 1054, 2011.

IGNOFFO, C. M. Entomopathogens as insecticides. **Environmental Letters**, London, v. 8, p. 24-40, 1975.

IMPERATO, R. **Incidência da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi*, Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em duas espécies cítricas na região centro-leste do Estado de São Paulo: dinâmica populacional, aleirodídeos associados, diversidade de parasitoides (Hymenoptera), influência de fatores abióticos e aspectos nutricionais**. 96f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, São Paulo, 2014.

INFO AGRICULTURA. SP solicita revisão de legislação federal para mosca-negra-dos-citros. **Informativo Semanal**, São Paulo, v.2, n.7, 2008. Disponível em: <<http://www.agricultura.sp.gov.br/INFORMATIVO/Info%2025/alta.pdf>> Acesso em: 20 abr. 2015.

JACOBS, H.; GRAY, S. N.; CRUMP, D. H. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. **Mycological Research**, Amsterdam, v. 107, p. 47-56, 2003.

JUNGES, A. *Metarhizium anisopliae*: **expressão de proteína tóxica de origem vegetal e análise genômica e quitinases**. 145f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

KANNAN, R.; VEERAVEL, R. Effect of different dose and application methods of *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson against root knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) chitwood in Okra. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 11, p. 119–127, 2012.

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

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

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

KOUASSI, M.; CODERRE, D.; TODOROVA, S. I. Effects of the timing of applications on the compatibility of three fungicides and one isolate of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillein (Deuteromycotina). **Journal of Applied Entomology**, v. 127, 421–426, 2003.

KUMAR, G. A.; RAMYA, V. Compatibility of agrochemical with entomopathogenic fungi (*Paecilomyces lilacinus*) – a biological nematicide. **Journal of Global Biosciences**, v. 3, n. 2, p. 406-410, 2014.

LAZO, M. L. S. R. **Caracterização e patogenicidade de fungos entomopatogênicos isolados do percevejo bronzeado do eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012.

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

LEMOS, R. N. S. et al. Ocorrência de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) no Maranhão. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 558-559, 2006.

LEMOS, R. N. S.; SANTANA, G. F.; MEDEIROS, F. R. Mosca Negra dos Citros *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) - Situação e Controle no Maranhão. In: II SIMPÓSIO DE MANGA DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2007, Juazeiro, BA. **Palestras...** Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido, 2007. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 198). Editores: Maria Auxiliadora Coelho de Lima, Eduardo Assis Menezes. 1 CD-ROM, 2007.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Ames/USA: Blackwell Publishing, 2006. 388 p.

LOPES, E. B. et al. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*) na Paraíba. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 19-22, 2010.

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

LOUREIRO, E. de S. et al. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 263 -269, 2002.

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

LUANGSA-ARD, J. et al. *Purpureocillium*, a new genus for the medically importante *Paecilomyces lilacinus*. **Fems Microbiology Letters**, v. 312, p. 141-149, 2011.

MARASAS, W. F. O. Fumonins: history, word-wide occurrence and impact. In: JACKSON, L. S.; VRIES, J. W.; BULLERMAN, L. B. (Ed.). **Fumonins in food**. New York, Plenum Press, p. 1 – 17, 1996.

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

MARTI, G. A, et al. Isolation of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (Ascomycota: Hypocreales) from the chagas disease vector, *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera:Reduviidae) in an endemic area in Argentina. **Mycopathologia**, v.162, n. 5, p. 369–72, 2006.

MARTÍNEZ, N. B.; ANGELES, Y. N. J. Contribucion al conocimiento de la biologia de la "mosca prieta de los citricos", *Aleurocanthus woglumi* Ashby, en Venezuela. **Agronomía Tropical**, Maracay, v. 23, n. 4, p. 401-406, 1973.

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

MCCOY, C.W.; SAMSON, R. A.; BOUCIAS, D. G. Entomogenous fungi. In: IGNOFFO, C. M.; MANDAVA, N. B.(Ed.). **Handbook of natural pesticides. Microbial insecticides, part A: entomogenous protozoa and fungi**. Boca Raton: CRC Press, v.5, p.151-236, 1988.

MEDEIROS, F. R. et al. Dinâmica populacional da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em *Citrus* spp. no município de São Luís – MA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1016 – 1021. 2009.

MEDRANO-LÓPES, R.; MADERA, A. P.; FOZ, C. F. Infecciones oculares por *Purpureocillium lilacinum*: presentación de um caso y revisión de la literatura. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 32, n. 2, p. 111 -114, 2015.

MELLO, J. W.; MAIA, S. Mosca-negra-dos-citros. In: PINTO, A. de S.; ZACCARO, R. P. (orgs). **Produção de mudas e manejo fitossanitário dos citros**. Piracicaba: CP 2, 2008, p. 37 – 45.

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

MOINO JR., A.; ALVES, S. B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no comportamento de limpeza de *Heterothermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 611-620, 1998.

- MOLINA, R. et al. First report of citrus *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) in the State of Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Tecnology**, Curitiba, v. 57, n. 4, p. 472-475, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132014000400472&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 3 jan. 2016.
- MONTEIRO, B. S. et al. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodidae) em Pernambuco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 173-176, março-junio, 2012. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237123825024>>. Acesso em: 26 nov. 2015.
- MORAES, B. C. et al. Impacto das mudanças climáticas na ecoclimatologia de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1913 (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado do Pará. **Revista Brasileira de Metereologia**, v. 29, n. 1, p. 77 – 84, 2014.
- NEVES, P. M. O. J. et al. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 263–268, 2001.
- NEVES, M. F. et al. **O retrato da citricultura brasileira**, São Paulo: CitrusBR, 2011. 138p.
- NGUYEN, R.; HAMON, A. B. **Citrus blackfly**, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae). DPI Entomology Circular, Gainesville, n. 360, set./out. 1993. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/CH114>>. Acesso em: 04 mar. 2015.
- NGUYEN, R. **A citrus blackfly parasitoid**, *Amitus hesperidum* Silvestri (Insecta: Hymenoptera: Platigasteridae). Circular EENY 243. University of Florida, 2008. 3p.
- NICHOLLS, C. I. **Control Biológico de Insectos Plagas: Um enfoque agroecológico**. Universidad de California, Berkeley, 2004, 282p.
- NOVARETTI, W. R. T. et al. Efeito da aplicação conjunta do fungo *Paecilomyces lilacinus* e do nematicida Furadan 5 G no controle de nematoides em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 10, p. 133-144, 1986.
- NUNES, H. T. **Agentes microbianos no controle de nematoides e fungos fitopatogênicos de soja e sua compatibilidade com agroquímicos**. 77f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo, Jaboticabal, 2008.

OLIVEIRA, M. R.V. de; SILVA, C. C. A. da; NÁVIA D. **Mosca negra dos citros** *Aleurocanthus woglumi*: alerta quarentenário. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2001. 12 p.

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

PELIZZA, S. A. et al. First record of *Fusarium verticillioides* as na entomopathogenic fungus of grasshoppers. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 70, p. 1 – 8, 2011.

Disponível em: <http:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3281437/pdf/031.011.7001.pdf>>.

Acesso em: 07 fev. 2016.

PENA, M. R. et al. Inibição do desenvolvimento de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) por *Aschersonia* CF. *aleyrodis* Webber (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 619 – 625, 2009.

PERDOMO, H. et al. Polyphasic analysis of *Purpureocillium lilacinum* isolates from different origins and proposal of the new species *Purpureocillium lavendulum*.

Mycologia, v. 105, n. 1, p. 151-161, 2013.

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

PIRES, A. P. D. **Diversidade genética e caracterização molecular em linhagens de *Beauveria bassiana***. 74f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

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

POTRICH, M. et al. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 1783 – 1792, 2011.

PRASAD, P.; VARSHNEY, D., ADHOLEYA, A. Whole genome annotation and comparative genomic analyses of bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum*. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1004, p. 1 – 14, 2015.

PRATISSOLI, D. et al. Seletividade de inseticidas, recomendados para cucurbitáceas para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, p. 661 – 664, 2011.

RAGA, A.; BASILLI, J. F. M.; SOARES, D. Z. Comportamento de oviposição da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) em plantas cítricas. **Idesia**, Chile, v. 30, n. 2, p. 111-114, 2012.

RAGA, A. et al. Mosca negra dos citros. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 34, n. 2, p. 57 – 63, 2013.

RAGA, A.; MAIA, W. J. M. S. Exército Predador. **Cultivar**, Pelotas, ano XI, n. 82, p. 6 - 7, 2013.

RAGA, A.; COSTA, V. A. **Mosca negra dos citros**. São Paulo: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, p. 1 – 9, 2008. (Documento Técnico, 001). Disponível em:<<http://www.biological.sp.gov.br>>. Acesso em: 26 nov. 2015.

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

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

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

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B., NETO, S. S.; TANZANI, M. R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B., LOPES, R. B. (Ed). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, p. 270-302, 2008.

SAMSINAKOVA, A. Growth and sporulation of submersed cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 8, p. 395-400, 1966.

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

SAS System, the. Version 8.2. Cary: SAS Institute, 2001. 6 CD-ROM. Windows 98.

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

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

SILVA, R. Z. et al. Efeito de Agroquímicos à Base de Óleo Mineral e Vegetal sobre a Viabilidade dos Fungos Entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Paecilomyces* sp. Bainier. **BioAssay**, v. 1, n. 1, 2006.

SILVA, J. G. et al. Use of vegetable oils in the control of the citrus black fly, *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 38, n. 2, p. 182-186, 2012.

SILVA, R. A. da. et al. Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 3, p. 152 – 160, 2013.

SILVA, J. D. C. et al. First report of citrus blackfly (Hemiptera: Aleyrodidae) in the state of Piauí, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 499-500, 2015.

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

SMITH, H. D.; MALTBY, H. L.; JIMENEZ, E. J. Biological control of the citrus blackfly in Mexico. USDA-ARS. **Technical Bulletin**, n. 1311, p. 1 - 30, 1964.

SOLIMAN, E. P. **Controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) com fungos entomopatogênicos**. 98f. Tese (Doutorado em Agronomia – Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014.

STARK, J. D.; BANKS, J. E. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.48, p.505–519, 2003.

SUMMY, K. R. et al. Biological control of citrus blackfly (Homoptera: Aleyrodidae) in Texas. **Environmental Entomology**, v. 12, p. 782- 786, 1983.

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

TEETOR-BARSCH, G. H.; ROBERTS, D. W. Entomogenous *Fusarium* species. **Mycopathologia**, v. 84, p. 3-16, 1983.

URBEN, A. F. et al. **Curso sobre taxonomia de *Fusarium* spp.**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, 2009. 1 folder.

VELOZO, S. G. M. **Identificação, caracterização e avaliação da patogenicidade de diferentes isolados de *Fusarium* spp. para o controle de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2015.

VIDAL, C. et al. Effect of host plant on the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for controlling the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses. **Biological Control**, v. 12, p. 191 – 199, 1998.

VIEIRA, D. L. et al. Aplicação de óleos comerciais no controle ovicida de *Aleurocanthus woglumi* Asbhy. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1126 - 1129, 2013.

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

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

WHITE, G. L.; KAIRO, M. T. K.; LOPEZ, V. Classical biological control of the citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* by *Amitus hesperidum* in Trindade. **BioControl**, v. 50, p. 751 – 759, 2005.

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

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

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

YAMAMOTO, P. T. et al. Citros: estrago à vista. **Revista Cultivar: Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 8, n. 48, p. 22 – 24. 2008.

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

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

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