



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

FRANCILANE NASCIMENTO COSTA

Patogenicidade de *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* e *I. farinosa* sobre *Tetranychus urticae*

Mossoró/RN

2019

FRANCILANE NASCIMENTO COSTA

Patogenicidade de *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* e *I. farinosa* sobre *Tetranychus urticae*

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy

Co-Orientador: Prof. Dr. Lívio Carvalho de Figueiredo

Mossoró/RN

2019

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

N837p Nascimento Costa, Francilane.
Patogenicidade de *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* e *I. farinosa* sobre *Tetranychus urticae*
/ Francilane Nascimento Costa. - 2019.
51 f. : il.

Orientador: Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy.
Coorientador: Dr. Lívio Carvalho de Figueiredo.
Monografia (graduação) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia, 2019.

1. *Tetranychus urticae*. 2. *Beauveria bassiana*.
3. *Isaria* spp. 4. Controle biológico. 5. Fungos entomopatogênicos. I. Sekiguchi de Godoy, Dr. Maurício, orient. II. Carvalho de Figueiredo, Dr. Lívio, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

FRANCILANE NASCIMENTO COSTA

Patogenicidade de *Beauveria bassiana*, *Isaria javanica* e *I. farinosa* sobre *Tetranychus urticae*

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 22/03/2019

BANCA EXAMINADORA


(Prof. Dr. Mauricio Sekiguchi de Godoy)

Orientador


(Prof. Dr. Livio Carvalho de Figueiredo)
Coorientador


(Dr. João Paulo Bezerra Saraiva)
Examinador


(MSc Jessé Malveira Gomes)
Examinador

A Deus, todos os dias de minha vida.
Aos meus pais, com amor e reconhecimento
Por todo apoio e incentivo incondicionais.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A todas as pessoas que estiveram do meu lado me apoiando e as que possibilitaram que esse trabalho fosse possível, especialmente essas.

RESUMO

O Brasil porta o título de segundo maior produtor mundial de mamão, contudo, alguns problemas limitam o cultivo do mamoeiro, como as frequentes manifestações de ácaro. Dentre os ácaros que acometem essa cultura, *Tetranychus urticae* Koch tem se disseminado causando grandes prejuízos aos produtores. Visando um método de controle alternativo dessa praga, o objetivo desse estudo foi verificar a eficiência de diferentes linhagens dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Isaria* spp. no controle biológico de *Tetranychus urticae* *in vitro*. Para atender aos objetivos, o trabalho foi realizado a partir de dois bioensaios: o primeiro sobre as fases imóveis do ácaro, com aplicação dos tratamentos na fase de ovo e avaliação até a fase adulta; e o segundo sobre as fases móveis com aplicação na fase de protoninfa e avaliação até a fase adulta. Os tratamentos foram formulados a partir de quatro linhagens fúngicas que correspondiam a *Isaria facinora* (URM1355), *Isaria javanica* (URM4995), *Beauveria bassiana* (URM202) e *Beauveria bassiana* de fontes comerciais para comparação com Espirodiclofeno e Abamectina como testemunhas. Os fungos foram crescidos em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), em placas de Petri incubadas em câmara BOD (Biological Oxygen Demand), a $28 \pm 1^\circ \text{C}$, UR $60 \pm 10\%$, e foram ajustados para a concentração de 1×10^8 conídios/mL, diluídos em água estéril contendo Tweem 80 (0,05% v/v), para serem aplicados por pulverização simples em parcelas contendo 22 placas/tratamento com 5 exemplares de organismos dispostos em discos foliares úmidos. Os tratamentos foram mantidos durante todo período de avaliação em câmaras climatizadas (B.O.D.) a $25 \pm 1^\circ \text{C}$, com umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h. O bioensaio das fases imóveis revelou que apenas o tratamento com Espirodiclofeno apresentou efeito máximo letal (100%), impedindo a eclosão de ovos. Os tratamentos de origem fúngica não obtiveram efeito inibitório da eclosão de ovos, já em relação a mortalidade, os resultados mostram que além de Espirodiclofeno, o tratamento *Beauveria bassiana* comercial também obteve letalidade chegando a 61% do total de mortes. O bioensaio das fases móveis não obteve resultados significativos em nenhum dos tratamentos para se afirmar a eficiência dos mesmos, apenas Abamectina mostrou-se eficaz no controle. Assim, pode-se concluir que apenas a linhagem fúngica comercial de *B. bassiana* apresenta efeito letal ao ácaro, nas condições testadas.

Palavras-chave: *Tetranychus urticae*. *Beauveria bassiana*. *Isaria* spp. Controle biológico. Fungos entomopatogênicos.

ABSTRACT

Brazil bears the title of second largest producer of papaya, however, some problems limit the cultivation of papaya, such as frequent manifestations of mites. Among the mites that attack this crop, *Tetranychus urticae* Koch has spread causing great damage to the producers. Aiming at an alternative control method of this pest, the objective of this study was to verify the efficiency of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Isaria* spp. in the biological control of *Tetranychus urticae* in vitro. In order to meet the objectives, the work was carried out from two bioassays: the first one on the still phases of the mite, with application of the treatments in the egg phase and evaluation until the adult stage; and the second on the mobile phases with application in the protoninfa phase and evaluation until the adult stage. The treatments were formulated from four fungal strains corresponding to *Isaria facinora* (URM1355), *Isaria javanica* (URM4995), *Beauveria bassiana* (URM202) and *Beauveria bassiana* from commercial sources for comparison with Spirodiclofen and Abamectin as controls. The fungi were grown in Potato-Dextrose-Agar (BDA) medium, in Petri dishes incubated in a BOD (Biological Oxygen Demand) chamber at 28 ± 1 °C, RH $60 \pm 10\%$, and were adjusted to the concentration of 1×10^8 conidia / ml, diluted in sterile water containing Tween 80 (0.05% v / v), to be applied by simple spraying in plots containing 22 plates / treatment with 5 copies of organisms arranged in wet leaf discs. The treatments were maintained throughout the evaluation period in conditioned chambers (B.O.D.) at 25 ± 1 °C, with relative humidity (RH) of $60 \pm 10\%$ and photoperiod of 12 h. The bioassay of the immobile phases revealed that only the treatment with Spirodiclofen presented maximum lethal effect (100%), preventing the hatching of eggs. In addition to spirodiclofen, *Beauveria bassiana* commercial treatment also obtained lethality reaching 61% of the total deaths. The results showed that in addition to spirodiclofen, the *Beauveria bassiana* commercial treatment also obtained lethality reaching 61% of the total deaths. The bioassay of the mobile phases did not obtain significant results in any of the treatments to assert their efficiency, only Abamectin was effective in the control. Thus, it can be concluded that only the commercial fungal line of *B. bassiana* presents a lethal effect to the mite under the conditions tested.

Keywords: *Tetranychus urticae*. *Beauveria bassiana*. *Isaria* spp. Biological control. Entomopathogenic fungi.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
2.1	Cultura do mamão (<i>Carica papaya</i> L.).....	11
2.2	Ácaro-rajado (<i>Tetranychus urticae</i> Koch).....	12
2.3	Controle químico de <i>Tetranychus urticae</i>	14
2.4	Resistência de <i>Tetranychus urticae</i> a acaricidas.....	15
2.5	Controle biológicos de pragas.....	17
2.6	<i>Beauveria bassiana</i> (Vuill.).....	18
2.7	<i>Isaria</i> spp.....	19
2.8	Patogenicidade de <i>B. bassiana</i> e <i>Isaria</i> spp. no controle de pragas agrícolas.....	20
2.9	<i>Beauveria bassiana</i> e <i>Isaria</i> spp. no controle de <i>Tetranychus urticae</i>	23
3	OBJETIVOS DA PESQUISA.....	25
3.1	Objetivo geral.....	25
3.2	Objetivos específicos.....	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1	Aquisição do material biológico de origem fúngica.....	26
4.2	Cultura e produção de esporos de <i>Beuaveria bassiana</i> e <i>Isaria</i> spp.....	26
4.3	Bioensaios com <i>Tetranychus urticae</i> (Koch).....	26
4.4	Coleta de <i>Tetranychus urticae</i>	27
4.5	Criação e manutenção de <i>Tetranychus urticae</i>	27
4.6	Tratamentos sobre as fases imóveis de <i>Tetranychus urticae</i>	27
4.7	Tratamentos sobre as fases móveis de <i>Tetranychus urticae</i>	28
4.8	Análise estatística.....	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1	Bioensaio das fases imóveis	30
5.2	Bioensaio das fases móveis	35
6	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

O Brasil detém o título de segundo maior produtor mundial de mamão, chegando a produzir 12,5 milhões de toneladas no ano de 2013, o que o insere na condição de um dos principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu (EMBRAPA, 2018). As regiões com maiores índices de produção no país são Nordeste e Sudeste, com destaque para os estados da Bahia, Espírito Santo, Rio Grande do Norte e Ceará, que são responsáveis por aproximadamente 92% da produção nacional (EMBRAPA, 2018) e 12,6% da produção mundial (FAOSTAT, 2019).

Apesar do seu potencial produtivo alguns problemas limitam o cultivo do mamoeiro, como as frequentes manifestações de ácaro, sua principal praga incidente. Dentre os ácaros que acometem essa cultura, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), vulgarmente conhecido como ácaro-rajado, tem sido registrado em estados do Nordeste brasileiro, onde se tornou um problema sério a partir dos anos 90 (MORAES; FLECHTMANN, 2008) e no Rio Grande do Sul, como praga secundária (VALADÃO et al., 2012).

T. urticae é de ocorrência comum em clima tropical e temperado em cerca de 150 espécies de plantas. No mamoeiro ataca a parte inferior das folhas causando severas injúrias e provocando a queda prematura das mesmas, dessa forma prejudicando o desenvolvimento, a produtividade da planta e a qualidade comercial dos frutos devido à exposição dos mesmos aos raios solares (ANDRADE, 2009). As opções de tratamentos convencionais contam com os acaricidas específicos ou inseticidas-acaricidas (WATANABE et al., 1994). Em muitos casos, porém, este controle é ineficiente, principalmente devido ao desenvolvimento de populações do ácaro com resistência aos acaricidas (MORAIS et al., 2008) como tem sido documentado em culturas de diversos países (MILLER et al., 1985; EDGE; JAMES, 1982; EDGE; JAMES, 1986; DENNEHY et al., 1987; FLEXNER et al., 1988; TIAN et al., 1992; BEERS et al., 1998; HERRON et al., 1998; HERRON et al., 2001; STUMPF; NAUEN, 2001; HERRON; ROPHAIL, 2003; HERRON et al., 2004; VAN LEEUWEN et al., 2004; AY, 2005; SUH et al., 2006; VAN POTTELBERGE et al., 2009) e, no Brasil (SATO et al., 2000a; SATO et al., 2000b; SATO et al., 2004; SATO et al., 2005; SATO et al., 2007a), em processo gradativo.

No Brasil, o controle do ácaro-rajado é feito sobretudo através de métodos químicos, com a aplicação de vários produtos existentes no mercado (PACHECO et al., 2017). A ocorrência de resistência do ácaro aos químicos é concebível, já que se trata de uma problemática na qual tende a expandir-se em razão do uso excessivo desses produtos.

Em função desse hábito, o controle biológico definido como regulação populacional através de inimigos naturais ou produtos derivados (EMBRAPA, 2007) é uma alternativa viável e tornou-se fundamental em programas de manejo integrado de pragas (MIP). O emprego de técnicas de controle biológico para redução de pragas agrícolas tem sido crescente, permitindo a substituição de acaricidas convencionais por inimigos naturais diversificados. Dentre os organismos que atuam no controle biológico de ácaros, podemos destacar: os ácaros predadores da família Phytoseiidae para combater *T. urticae*, amplamente estudados e documentados por autores em diversos cultivos (PUCHALSKA, E. K., & KOZAK, 2016; REICHERT et al., 2017; SOUZA-PIMENTEL et al., 2017) e linhagens de fungos, que vêm sendo bastante estudadas atualmente, especificamente os fungos entomopatogênicos, que no geral, apresentam produção de esporos efetivos na infecção, além de mostrar maior especificidade em relação à praga alvo, quando comparados aos acaricidas químicos.

Os fungos entomopatogênicos com maior destaque no setor agrícola brasileiro são *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) e *Beauveria bassiana* (Bals.- Criv.) Vuill., que possuem atuações no controle de diversas pragas (IMMEDIATO et al., 2017), além do gênero *Isaria* sp, que mais recentemente tem se mostrado promissor no controle de diversos ácaros fitófagos juntamente com a *B. bassiana*, sobretudo de *T. urticae*, com resultados positivos de sua eficácia em trabalhos diversos (SHI & FENG, 2004; SHI et al., 2008; SHI & FENG, 2009; ZHANG et al., 2014; GRAFF et al., 2017). Embora as vantagens da aplicação de fungos como biopesticidas no meio agrícola sejam bem conhecidas, principalmente quanto a redução dos riscos relacionados ao uso de produtos químicos, a sua aplicação em larga escala ainda é limitada, sobretudo com relação a inconsistência de seu desempenho por fatores abióticos, tais como a temperatura, umidade, radiação ultravioleta (UV) e tipo de *habitat*, no qual, podem reduzir significativamente a viabilidade conidial, a velocidade de germinação, a taxa de crescimento de hifas e a produção de esporos (IMMEDIATO et al., 2017). No entanto, os fatores abióticos acima citados não são restritivos quando as cepas de fungos são estirpes nativas e utilizados como mico-inseticidas/ acaricidas (ÁLVAREZ-BAZ et al., 2015; CAFARCHIA et al., 2015; IMMEDIATO et al., 2015).

Verificar a patogenicidade desses microrganismos para a praga alvo em condições específicas faz-se essencial para elucidação de qualquer imprecisão da técnica, tornando-a mais eficiente a nível de especificidade. Considerando esses pressupostos, esse estudo objetiva a análise *in vitro* do efeito toxicológico dos isolados de duas espécies de *Isaria* (*I. farinosa* e *I. javanica*) e duas linhagens de *Beauveria bassiana* sobre *Tetranychus urticae*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cultura do mamão (*Carica papaya* L.)

O mamoeiro cultivado comercialmente (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, que se divide em seis gêneros e 35 espécies. Os gêneros *Jacaratia* (com oito espécies) e *Vasconcella* (com vinte espécies) são originários da América do Sul; o gênero *Carica*, da América Central, ao Noroeste da América do Sul (uma espécie); o *Horovitzia*, do México (uma espécie); o gênero *Jarilla* do México e Guatemala (três espécies) e o *Cylicomorpha*, da África (duas espécies). A espécie mais importante, *Carica papaya* L., possui diversidade máxima no México e na vertente oriental dos Andes, mais precisamente, na Bacia Amazônica Superior; o que caracteriza o mamoeiro como planta tipicamente tropical (EMBRAPA, 2013).

O Brasil detém o título de segundo maior produtor mundial de mamão, chegando a produzir 12,5 milhões de toneladas no ano de 2013, o que o insere na condição de um dos principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu (EMBRAPA, 2018). As regiões com maiores índices de produção no país são Nordeste e Sudeste, com destaque para os estados da Bahia, Espírito Santo, Rio Grande do Norte e Ceará, que são responsáveis por aproximadamente 92% da produção nacional (EMBRAPA, 2018) e 12,6% da produção mundial (FAOSTAT, 2015).

Apesar disso, a produção de mamão enfrenta alguns desafios como pragas incidentes nesses cultivares. Foram registradas dez espécies de ácaros-pragas documentados por Martins (2003) em mamoeiro no Brasil. Os ácaros representam o principal fator limitante para a planta ocorrendo em todas as regiões com esse cultivar, causando severos prejuízos. Esses ácaros se alimentam de diferentes partes das plantas e causam deformações foliares, queda prematura de folhas, afetando o vigor e, por isso, comprometem a produtividade e a qualidade dos frutos do mamoeiro (SANTA CECÍLIA & REIS, 1986).

O ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) causa maior dano durante o período mais úmido e quente do ano e se distribui na cultura em focos, o que facilita seu controle logo no surgimento dos primeiros sintomas. O ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) é considerado a principal praga primária do mamoeiro, com maior densidade populacional nos meses mais quentes e secos do ano (MARTINS, 2003), embora possa ser encontrado na cultura durante todo o ano (COUTO

et al., 2003), com distribuição mais uniforme na lavoura e necessitando ser controlado por pulverizações em áreas mais amplas.

T. urticae, tem sido registrado em estados do Nordeste brasileiro, onde se tornou um problema sério a partir dos anos 90 (MORAES; FLECHTMANN, 2008) e no Rio Grande do Sul, como praga secundária (VALADÃO et al., 2012). A dificuldade no controle desse tipo de praga deve-se ao fato deste ter fácil adaptação a qualquer tipo de clima. O ácaro-rajado provoca amarelecimento e posterior necrose (morte) das folhas, ocasionando, com isso, a desfolha da planta, afetando seu desenvolvimento e deixando os frutos expostos à ação direta dos raios solares, o que prejudica a sua qualidade (Figura 1).

Figura 1. Folhas com sintomas de ataque do ácaro-rajado.



Fonte: EMBRAPA (2009).

2.2 Ácaro-rajado (*Tetranychus urticae* Koch)

A família Tetranychidae detém os ácaros de maior importância econômica para a agricultura mundial, o que diz respeito a utilização de cerca de 80% dos acaricidas comercializados, direcionados para o controle desses ácaros (GRÄFF et al. 2017). Essa família de ácaro pode produzir quantidades variáveis de teias, que tem diferentes finalidades, como manter níveis de umidade adequados para os ovos dos ácaros, que frequentemente são postos sobre ou sob a teia, além de facilitar a alimentação dos ácaros que a produzem,

favorecendo seu posicionamento inclinado em relação à superfície da folha, facilitando a introdução dos estiletos utilizados neste processo (OLIVEIRA, 1988).

T. urticae costuma viver nas folhas mais velhas do mamoeiro, geralmente na parte inferior do limbo, entre as nervuras mais próximas do pecíolo, onde tecem teias e depositam seus ovos. As fêmeas geralmente ovipositam de 50 a 60 ovos, durante aproximadamente 10 dias. Os ovos são de forma esférica e de tonalidade amarelada e sua incubação dura em média quatro dias. O ciclo do ovo a adulto completa-se em cerca de 13 dias (MARTINS, 2003). Os ovos fecundados originam indivíduos de ambos os sexos e os não fecundados (ovos partenogenéticos) originam machos (Flechtmann, 1981).

Esse ácaro atinge o estágio adulto após três estágios; iniciando-se como larva (com três pares de pernas), protoninfa e deutoninfa. Nesses estágios, o padrão de coloração é semelhante ao dos adultos, diferindo apenas no tamanho (Flechtmann, 1981). Os adultos de *T. urticae* podem ser vistos a olho nu e apresentam dimorfismo sexual acentuado. Suas fêmeas são de maior tamanho e possui corpo mais volumoso, com cerca de 0,46 mm de comprimento e uma mancha verde-escura em cada lado do dorso (Fig. 2). Os machos medem, aproximadamente, 0,25 mm de comprimento, tendo a parte posterior do corpo mais afilada (MARTINS, 2003). O ácaro-rajado alimenta-se do líquido celular extravasado de células foliares rompidas com o estilóforo, provocando, inicialmente, amarelecimento do limbo foliar, seguido de necrose e, posteriormente, de perfurações nas folhas. Ataques intensos causam a seca das folhas, as quais caem prematuramente, reduzindo a área foliar e expondo os frutos à ação dos raios solares, o que prejudica a qualidade dos mesmos, afetando o desenvolvimento e a produtividade da planta (MARTINS, 2003).

Figura 2. Ácaro-rajado adulto *Tetranychus urticae* (Koch).



Fonte: Brooker Pest Control. Disponível em:< <http://brookerpestcontrol.com/bug/spider-mite/>>. Acesso em: Março de 2018.

O ácaro-rajado é a espécie mais disseminada em mamoeiros, podendo ser encontrada durante todo o ano (COUTO et al., 2003), alcançando o acme populacional nos períodos de seca prolongada e temperatura elevada (NAKAYAMA et al., 1986). Esses ácaros podem ser encontrados em clima tropical e temperado em mais de 150 plantas, incluindo o mamão, amora-preta, pêssigo, amendoim, algodão, soja, chuchu, pepino, ervilha, fava, mamona, flores, morango, tomate, beringela, pimentão, feijão e folhagens diversas, (SANTA CECÍLIA & REIS, 1986).

2.3 Controle químico de *T. urticae*

O número reduzido de agroquímicos registrados para controle de *T. urticae* tem dificultado a adequação do tratamento fitossanitário na cultura do mamoeiro (ANDREI, 1999; MARIN et al., 1988; MARTINS, 2003). No Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), apenas seis princípios ativos estão registrados para o ácaro-rajado: abamectin, azadiractina, fenpropatrina, milbemectina fenpiroximatoe piridabem (AGROFIT, 2018). Na literatura, vários estudos comprovam a eficiência de agroquímicos no controle do

ácaro-rajado em outras culturas (NAKAYAMA et al., 1986; SATO et al., 2000a; SILVA et al., 2000; SATO et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2003; ASHLEY et al., 2006; ISMAIL et al., 2007), além do potencial para o controle de pragas do mamoeiro como o *T. urticae* (FANTON et al., 1993; MARTINS & MARIN, 1998). Muitos dos produtores aplicam produtos registrados para outras culturas para evitar problemas como a resistência, mas a planta do mamoeiro é muito sensível a agroquímicos e alguns destes são fitotóxicos a essa cultura (FANTON et al., 1993).

2.4 Resistência de *Tetranychus urticae* a acaricidas

Diante da sensibilidade da cultura do mamoeiro a agroquímicos, existem outras adversidades que dificultam o controle dessa praga na agricultura mundial, no que diz respeito a seleção de ácaros resistentes a esses produtos químicos destinados a seu controle. *Panonychus ulmi* (Koch) (Tetranychidae) está entre os doze artrópodes mais resistentes, sendo relatada resistência para 46 princípios ativos, ao passo que para *Tetranychus urticae* (Koch) (Tetranychidae) é relatada a resistência para 93 princípios ativos, assumindo o topo dos casos de resistência (LEEUWEN et al., 2015)

A resistência de *T. urticae* aos acaricidas foi documentada em diversos países. Nos Estados Unidos, desde 1949, a organofosforados (SAITO et al., 1983; HOY et al., 1988; TIAN et al., 1992; HERRON et al., 1998); na Austrália ao bifenthrin (HERRON et al., 2001), cihexatin (EDGE & JAMES, 1986; HERRON et al., 1994), chlofenapyr (HERRON & ROPHAIL, 2003); HERRON et al., 2004) e fenbutatin (EDGE E JAMES, 1986; Herron et al., 1994); na Bélgica ao chlofenapyr (VAN LEEUWEN et al., 2004); na Turquia ao chlorpyrifos (AY, 2005); na Korea ao fenpyroximate e pyridaben (SUH et al., 2006); na Alemanha, Austrália, Colômbia, Holanda e Japão ao abamectin (STUMPF & NAUEN, 2001); no Brasil a vários acaricidas (CHIAVEGATO et al., 1983; SATO et al., 1994; SUPPLY FILHO et al. 1994; SATO et al., 2000a; SATO et al., 2000b; SATO et al., 2004; SATO et al., 2005; SATO et al., 2007a) em processo gradativo.

O ácaro-rajado está entre as pragas notórias por seu alto potencial para desenvolver resistência a inseticidas (Tabela 1). Isso se deve principalmente ao seu ciclo de vida curto em paralelo a sua alta taxa de incidência, tornando necessário aplicações frequentes de acaricida para que haja o controle do mesmo, o que leva rapidamente ao desenvolvimento de resistência (LEWEEEN et al., 2014).

Tabela 1. Doze principais artrópodes que apresentaram resistência, com base no número de componentes ativos para os quais a resistência foi relatada e o número de casos de resistência relatados para cada espécie.

Espécies	Ordem: Família	Tipo de praga	Nº de componentes ativos	Nº de casos
<i>Tetranychus urticae</i>	Acari: Tetranychidae	Colheita	93	417
<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera: Plutellidae	Colheita	92	582
<i>Myzus persicae</i>	Homoptera: Aphididae	Colheita	75	402
<i>Musca domestica</i>	Diptera: Muscidae	Urbano	60	308
<i>Bemisia tabaci</i>	Homoptera: Aleyrodidae	Colheita	55	555
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Coleoptera: Chrysomelidae	Colheita	54	279
<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera: Noctuidae	Colheita	48	694
<i>Aphis gossypii</i>	Homoptera: Aphididae	Colheita	48	231
<i>Panonychus ulmi</i>	Acari: Tetranychidae	Colheita	46	189
<i>Boophilus microplus</i>	Acari: Ixodidae	Pecuária	44	167
<i>Blattella germanica</i>	Dermaptera: Blattellidae	Urbano	43	219
<i>Spodoptera litura</i>	Lepidoptera: Noudidae	Colheita	40	465

Fonte: LEEUWEN (2014).

As resistências cruzadas e múltiplas também foram constatadas em *T. urticae*, como ao cyhexatin, que conferiu resistência, além dos acaricidas azocyclotin e fenbutatin (EDGE & JAMES, 1986) e resistência cruzada entre abamectim e milbemectim (SATO et al., 2005).

Van Leeuwen e colaboradores (2004) relatou a resistência múltipla do chlofenapyr (desacoplador da fosforilação oxidativa via disrupção do gradiente de próton H⁺), relatada com o dimetoato (organofosforado) e com o fenpyromimate (inibidores do transporte de elétrons no complexo I) (KIM et al., 2004) e a resistência múltipla do bifenthrin com o piretróide 1- cyhalothrin com o organofosforado e dimethoate (YANG et al., 2002). O pequeno número de cromossomos (n=3) de *T. urticae* aumenta a possibilidade do desenvolvimento da resistência múltipla (SATO et al., 2005). Um acaricida pode selecionar um grupo de ácaros resistentes a outro grupo de acaricidas, se os genes responsáveis pela resistência desses dois grupos são localizados no mesmo cromossomo (OMOTO, 1995).

No Brasil, culturas de algodoeiro (CHIAVEGATO et al., 1983), morangueiro (SATO et al., 2002; SATO et al., 2007b) e pessegueiro (SATO et al., 2000b), foram estudados visando o manejo da resistência de *T. urticae* à acaricidas. No entanto, são necessários estudos em outras culturas, como o mamoeiro, para subsidiar o controle dessa praga.

2.5 Controle biológico de pragas

De acordo com Carvalho (2006), o controle biológico de praga é empregado desde o séc. III a.C. com formigas predadoras utilizadas pelos chineses, para controlar pragas em plantas cítricas. Assim como na Arábia medieval, onde os agricultores utilizavam colônias de formigas predadoras para o controle de formigas fitófagas em palmáceas nos oásis.

O primeiro registro de sucesso de controle biológico clássico ocorreu na Califórnia, Estados Unidos da América. Quando uma espécie não nativa, a joaninha *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleptera: Coccinellidae), trazida da Austrália em 1888, foi introduzida para o controle do pulgão-branco dos citrus, *Icerya purchasi* Maskell (Homoptera: Margarodidae). Em dois anos a praga estava controlada (CARVALHO, 2006). Outra alternativa promissora para o controle biológico são fungos entomopatogênicos, testados com sucesso contra diversas pragas agrícolas. Porém, novos trabalhos científicos nessa área devem ser estimulados, visando o aumento na utilização natural contra pragas de importância econômica (LACEY et al., 2001).

Outra perspectiva no uso de fungos entomopatogênicos é sua associação com extratos vegetais para aumentar a eficiência no controle biológico (MARQUES et al., 2004; DEPIERI et al., 2005). Existem ainda defensivos químicos compatíveis com fungos entomopatogênicos que, quando testados em condições de laboratório, demonstraram que a combinação de fungos e defensivos químicos pode ser uma alternativa para pragas de difícil controle, como no controle dos tripses (DALZOTO & UHRY, 2009).

O controle biológico de artrópodes utilizando fungos entomopatógenos tem se intensificado nas últimas décadas. O interesse na utilização desta técnica é devido a semelhante ocorrência na natureza e por não apresentar os efeitos negativos causados por uso de agrotóxicos (ALVES, 1992; HEADRICK & GOEDEN, 2001; INGLIS et al., 2001).

Vários Hypocreales entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Isaria fumosorosea* (Wize), já são registrados e comercializados. Contudo, a suscetibilidade de tais fungos a altas temperaturas resulta em um curto tempo de vida útil e surge como um obstáculo relevantemente forte para a industrialização bem-sucedida desses biológicos. A persistência de conídios a longo prazo em um ambiente de alta temperatura, pode ser obtida pela manipulação cuidadosa de métodos de cultura sólida ou por tecnologias de formulação (KIM et al., 2010).

Estudos tem mostrado que *Isaria cateniannulata* (Liang) Samson & Hywel-Jones (= *Paecilomyces cateniannulatus* [Liang]) (Hypocreales: Clavicipitaceae) foi isolado de uma

variedade de insetos e se mostrou um dos fungos entomopatogênicos mais prevalentes. É a segunda espécie mais comum e amplamente distribuída após *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. em ecossistemas florestais (ZHANG et al., 2007a, b; LI et al., 2011). Em 1954, Macleod já relatava em seu trabalho que *B. bassiana* foi o patógeno mais encontrado em insetos mortos na natureza. A ocorrência de *B. bassiana* sobre diversas pragas no campo, já havia sido relatada no Brasil por Alves & Moraes (1998). Esse fungo é de ocorrência comum em diversos países, sendo a mais frequente sobre os insetos e em amostras do solo, onde pode subsistir por longos períodos de tempo (ALVES & MORAES, 1998).

2.6 *Beauveria bassiana* (Vuill.)

O gênero *Beauveria bassiana* (Vuill.) foi estabelecido em homenagem ao renomado entomologista francês Beauveria, por Vuillemin em 1912. O fungo foi encontrado sobre o bicho da seda *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), causando a doença muscardine branca. Foi Agostino Bassi quem primeiro demonstrou que a doença era ocasionada por um fungo. Não sendo micologista, Bassi enviou a cultura do fungo para Balsamo na Itália o qual incluiu o fungo no gênero *Botrytis* e o nomeou de *Botrytis bassiana*. Posteriormente, muitos estudos foram realizados e as características dos fungos não condiziam com *Botrytis*. Assim, em 1912, Vuillemin reestudou o fungo e denominou de *Beauveria bassiana*, como é conhecido até os dias atuais. Foram documentados ainda para o gênero, quatro espécies: *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *B. effusa* (Beauveria) Vuillemin, *B. densa* (Link) Picard e *B. globulifera* (Spegazzini) Picard, (BENHAM & MIRANDA, 1953).

Beauveria bassiana dispõe de grande variabilidade natural, que pode ser reconhecida através de análises do crescimento e conidiação em diferentes meios de cultivo, bem como por técnicas de eletroforese. Analisando o polimorfismo genético existente entre diferentes linhagens de *B. bassiana* através de eletroforeses de α -esterases (isoenzimas) é possível identificar as linhagens e contribuir com o estudo de populações selvagens deste fungo (PACCOLA-MEIRELLES e AZEVEDO, 1990).

B. bassiana tem sido estudada com resultados promissores que mostram a eficácia desse fungo no controle de diversas pragas de interesse agrícola. Os fungos atacam o hospedeiro produzindo metabólitos tóxicos que auxiliam no processo de infecção. Esses compostos contam com enzimas de vários tipos de moléculas biologicamente ativas; dentre essas, destacam-se os depsipeptídeos, formados por aminoácidos e hidroxíácidos alternados. As funções desses compostos na patogenicidade geralmente não são bem definidas, mas

incluem a dissolução da cutícula para a indução da doença, supressão do sistema imune, interferência com os canais de íons e funções celulares do hospedeiro. Os entomopatogênicos, que penetram no hospedeiro através da cutícula, desenvolveram eficientes enzimas para a degradação dessa camada protetora dos insetos, transformando-a em nutrientes. Estudos mostram que *B. bassiana*, produz exoenzimas como lipases, amilases, quitinases e proteases que estão envolvidas no processo de penetração do tegumento do hospedeiro, e da infecção, causando a morte do inseto (BIDOCHKA & KACHATOURIANS, 1990; VALADARES-INGLIS & AZEVEDO, 1997). Os metabólitos beauvericina e bassianolide agem como um ionóforo citotóxico, de acordo com estudos que comprovam propriedades inseticidas das mesmas (URTZ & RICE, 2000). Outro estudo mostra que a produção de toxinas por *B. bassiana* requer uma temperatura ótima, pH ácido e condições diurnas de luz, mas isso não necessariamente resulta em seu crescimento máximo. A exposição à luz ultravioleta por quatro horas levou ao aumento da produção de toxinas, supostamente por mutações em algumas células (SHARMA et al., 1992).

2.7 *Isaria* spp.

A ordem Hyprocerales (Filo: Ascomycota) dividi-se em três famílias de fungos entomopatogênicos, uma delas é a família Cordycipitaceae que apresenta alguns dos gêneros de maior importância agrícola, como *Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium*. (HUMBER, 2012). De acordo com Alves (1998), o gênero *Isaria* (= *Paecilomyces*) agrupa um grande número de espécies entomopatogênicas que podem infectar diferentes ordens de insetos pragas em todas as fases do desenvolvimento do mesmo (SAMSON, 1974; TIGANO-MILANI et al., 1993). Uma mudança na nomenclatura do gênero *Paecilomyces* foi recentemente proposta pelo autor Luangsa-Ard e colaboradores (2005), que se baseou em estudos moleculares, no qual analisaram as relações filogenéticas de 37 espécies de *Paecilomyces* seção Isarioidea. Nesse estudo, os autores reconheceram um grupo monofilético de espécies que foi então designado como a clade *Isaria*, na qual se encontram as espécies *P. farinosus* e *P. javanica* entre outras. Algumas espécies de *Paecilomyces* remanescentes formalmente localizadas na seção Isarioidea necessitam ser mais bem estudadas e, portanto, permanecem no gênero *Paecilomyces*.

As espécies mencionadas sofreram alteração na nomenclatura: *P. amoeneroseus*, *P. cateniannulatus*, *P. cateniobliquus*, *P. cicadae*, *P. coleopterorus*, *P. farinosus*, *P. ghanensis*, *P. fumosoroseus*, *P. javanicus* e *P. tenuipes*, reclassificados por Luangsa-Ard e colaboradores

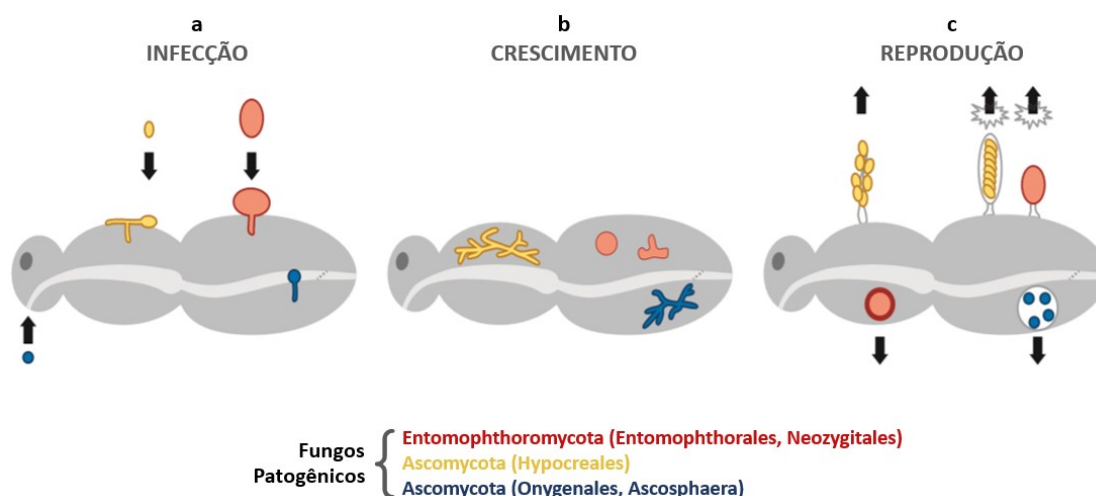
(2005), como *Isaria* e suas nomenclaturas foram modificadas: *I. amoenerosea*, *I. cateniannulata*, *I. cateniobliqua*, *I. cicadae*, *I. coleopterora*, *I. farinosa*, *I. ghanensis*, *I. fumosorosea*, *I. javanica* e *I. tenuiopes*, respectivamente.

Isaria é um gênero com característica cosmopolita, encontrada em áreas tropicais parasitando vários insetos das ordens: Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera e Homoptera (SAMSON, 1974; DOMSCH et al., 1980; ALVES, 1998). Seus conídios geralmente possuem cor hialina, unicelular e são produzidos em cadeias basípeta, ou seja, o conídio mais jovem encontra-se na base. Os conídios de *I. farinosa* são capazes de sobreviver por um longo período *in vitro* sem germinação. A viabilidade dos conídios é muito longa a uma umidade entre 0 e 34% (DERMICI et al., 2011).

2.8 Patogenicidade de *B. bassiana* e *Isaria* spp. no controle de pragas agrícolas

De acordo com Alves (1998), a infecção por *B. bassiana* ocorre de maneira tópica, via tegumento, onde o fungo germina entre 12 a 18 horas, dependendo da presença de nutrientes (fontes de carbono e nitrogênio). Boomsma e colaboradores (2014) em seu trabalho detalha as formas de infecção de fungos entomopatogênicos de algumas ordens (Figura 3), dentre essas, Hypocreales, que corresponde a ordem de *Beauveria* e *Isaria*.

Figura 3. Diagramas de infecção em artrópodes de diferentes ordens de fungos entomopatogênicos. O esquema representa hospedeiros em contorno cinza e as linhas pontilhadas indicam que o intestino posterior das larvas de abelhas encontra-se fechado. (a) Infecção: Fungos Entomophthorales infectam principalmente por conídios grandes e pegajosos que penetram a cutícula diretamente, e fungos Hypocreales infectam por pequenos conídios que produzem estruturas apressoras. Esporos *Ascospaera* também são pequenos, entram por via oral e infectam através do epitélio intestinal. (b) Crescimento: A maioria dos Hypocreales e Onygenales proliferam através do crescimento de hifas, e a maioria dos fungos Entomophthorales proliferam através de protoplastos sem parede celular. (c) Reprodução: Os conídios assexuais de fungos Entomophthorales e os ascósporos sexuais dos Hypocreales são primariamente submergem na superfície de cadáveres (setas para cima à direita), enquanto esporos sexuais de fungos Entomophthorales (muito grandes e espessos) e conídios assexuados de Hypocreales são liberado passivamente (setas para cima e para baixo à esquerda). *Ascospaera* produz apenas esporos sexuais que são liberados passivamente (seta para baixo à direita).



Fonte: (Boomsma, 2014)

A penetração tegumentar ocorre devido a uma ação mecânica (pressão da hifa que rompe áreas membranosas ou esclerotizadas) e enzimática, resultante da produção de enzimas (proteases e quitinases) que facilitam a penetração. Enzimas degradadoras de cutícula foram fatores de virulência abundantemente estudados em fungos entomopatogênicos (ZACHARUK, 1970; MURRIN & NOLAN, 1987). As proteases estão envolvidas na penetração da cutícula e correspondem a um importante fator de virulência, devido ao fato de que a cutícula do inseto é constituída por 60% de proteína estrutural (St LEGER et al., 1996). A quitina, que compreende a 30% da cutícula, é ainda envolvida por subunidades de proteínas (SAMSINAKOVA et al., 1971; St LEGER et al., 1986).

Isaria e *Beauveria* tem um ciclo biológico que lhe permite a condição de parasita facultativo. Seus conídios podem penetrar em qualquer parte da cutícula da praga. Ao penetrar a cutícula, formam-se tubos germinativos e hifas que atravessam o tegumento. Na hemolinfa do inseto o fungo se multiplica e logo há uma massa hifal considerável. O inseto morre e, assim, com o esgotamento dos nutrientes, se houverem condições favoráveis, o fungo emerge, exteriorizando suas hifas e formando uma massa branca na superfície do cadáver (DALZOTO & UHRY, 2009).

O gênero *Isaria* Persoon (= *Paecilomyces*) reúne espécies entomopatogênicas que são comprovadamente eficazes no controle biológico de pragas agrícolas (ALVES, 1998). Destaque para *Isaria farinosa* (Holm: Fries), mencionada na literatura com atividade patogênica a várias espécies de insetos, como *Pissodes punctatus* (Langor & Zhang) (Coleoptera: Curculionidae) *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) e

Coptotermes gestroi (Blattodea: Rhinotermitidae), entre outros (YANG et al., 2009; DEMIRCI et al., 2011; PASSOS et al., 2014). *Isaria javanica* (Frieder & Bally) Samson & Hywell-Jones é um eficiente entomopatógeno no controle de insetos-praga como: *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Lonomia obliqua* (Walker) (Lepidoptera: Saturniidae), *Hyalopterus pruni* (Geof) (Hemiptera: Aphididae), *Aphis pomi* (DeGeer) (Hemiptera: Aphididae), (SCORSETTI et al., 2008; SPECHT et al., 2009; HASAN et al., 2012). *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown & Smith tem sido isolada de uma variedade de insetos, tendo sua eficiência comprovada no controle de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), *Coptotermes formosanus* (Shiraki) (Blattodea: Isoptera: Rhinotermitidae), *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Liviidae), *Panonychus ulmi* (Koch) (Acariformes: Tetranychidae), entre outros (XU et al., 2011; MEYLING et al., 2012; WRIGHT; LAX, 2013; GRÄFF et al., 2017). No Brasil, *Isaria* sp. é utilizada no estado de Mato Grosso para o controle do percevejo de renda da seringueira, *Leptopharsa heveae* (Drake & Poor) (Heteroptera: Tingidae) (ALVES et al., 2008).

A atuação de diferentes linhagens de *B. bassiana* no controle de pragas de grande importância agrícola, já foi comprovada em diversos trabalhos. Linhagens como ESALQ-PL63 e ESALQ-447 com eficiência em condições de laboratório e campo (EMPRESA ITAFORTE BIOPRODUTOS, 2018). Além disso, *B. bassiana* é utilizada em escala comercial na produção de inseticidas biológicos em países como Estados Unidos e México (DALZOTO & UHRY, 2009).

Diversos produtos comerciais são encontrados no mundo, para controle biológico, contendo *B. bassiana* ativa em sua formulação (BUTT; WALDEN, 2000). Um exemplo bem conhecido é o bioinseticida BOVERIL[®] (assim denominado por ter como ingrediente ativo esporos do fungo *B. bassiana*), um dos três produtos desenvolvidos na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ – USP), em parceria com a empresa Itaforte BioProdutos. As principais culturas agrícolas nas quais o BOVERIL[®] atua são: morango (*Fragaria*), cana de açúcar (*Saccharum*), hortaliças, seringueiras (*Hevea brasiliensis*) e floricultura. Esse inseticida pode ser utilizado contra a “broca-do-café” (*Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), cochonilha ortézia (*Orthezia praelonga* Douglas, 1891 (Hemiptera: Ortheziidae), ácaros que devastam plantas dos *Citrus* e pragas que afetam bananeiras do gênero *Musa* (LOPES, 2003; ROMERO, 2003).

No Brasil, *B. bassiana* tem sido documentada na supressão de vários artrópodes pragas, como o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), cochonilha do carmim (*Dactylopius coccus* Costa, 1835 (Hemiptera: Coccoidae), espécies de cupins do gênero *Coptotermes*,

moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae), mosca branca (*Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), ácaro da falsa ferrugem (*Phyllocoptruta oleivora* Ashm., 1879 (Acari: Eriophyidae), broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae), carrapato boi (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) e o cascudinho (*Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (DALZOTO & UHRY, 2009).

2.9. *B. bassiana* e *Isaria* spp. no controle de *T. urticae*

No decorrer da última década, estudos demonstraram que uma gama de fungos entomopatogênicos, incluindo *Beauveria bassiana* (Bals.), *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, *Isaria fumosorosea* (Wize) e *Isaria cateniannulata* (Liang), poderiam causar altas taxas de mortalidade a *T. urticae* em condições de laboratório (SHI et al., 2008; SHI e FENG 2009; ZHANG et al., 2013; ULLAH e LIM 2015; WU et al., 2016a, b; ZHANG et al., 2016, 2018).

Alves e colaboradores (2002) trabalhando com o isolado 447 de *B. bassiana* na concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios/ mL, verificaram uma percentagem de mortalidade de 75% do ácaro *T. urticae*. Santos e colaboradores (2016) relataram a eficiência de fungos entomopatogênicos sobre *T. urticae* em condições de laboratório. Mais precisamente, dos isolados de *B. bassiana* testados, 64 isolados (58%), causaram mortalidade confirmada inferior a 50%, 18 isolados (28%) apresentaram mortalidade entre 50% e 69% e apenas 9 isolados (14%) ocasionaram mortalidade confirmada $\geq 70\%$. Considerando assim, que os isolados comerciais de *B. bassiana* podem ser eficientes no controle de *T. urticae* e são viáveis em uma estratégia nos programas de MIP.

Draganova & Simova (2010) realizou bioensaios com cinco isolados do fungo entomopatogênico *B. bassiana*, no qual foram conduzidos em condições de laboratório com o objetivo de estimar virulência ao ácaro *T. urticae*. O ácaro-rajado foi considerado suscetível aos isolados examinados de *B. bassiana*, a infecção causada a *T. urticae* por dois isolados de *B. bassiana* apresentaram letalidade rápida após o tratamento com suspensões conidiais, diferindo significativamente de outros três isolados testados, mostrando que diferentes linhagens apresentam ações diversas no processo de infecção dessa praga. Essa hipótese é sustentada por outros trabalhos como o de Tamai e colaboradores (2002) onde avaliou 45 isolados dos fungos *Aschersonia aleyrodidis* (1), *Beauveria bassiana* (32), *Metarhizium*

anisopliae (10), *Hirsutella* sp. (1) e *Paecilomyces farinosus* (1) quanto à patogenicidade ao ácaro *T. urticae*. Seus resultados revelaram que para *B. bassiana*, 19 isolados (59%) apresentaram valores de mortalidade corrigida ao quinto dia entre 60 a 80% e apenas oito isolados (25%) causaram mortalidades superiores a 80%.

Estudos a respeito da patogenicidade de *Isaria fumosorosea* sobre ácaros fitófagos em laboratório são relatados para *Tetranychus cinnabarinus* (Tetranychidae) com efetividade superior a 50% (SHI; FENG, 2004; SHI et al., 2008), *Tetranychus urticae* (Tetranychidae) com 75% de mortalidade das fêmeas e redução de fertilidade (SHI; FENG, 2009; ZHANG et al., 2014) e sobre *Panonychus ulmi* com resultados de 55% na taxa de mortalidade (GRÄFF et al. 2017).

3 OBJETIVOS DA PESQUISA

3.1 Objetivo geral

Verificar a patogenicidade de diferentes linhagens dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Isaria* spp. no controle biológico de *Tetranychus urticae* *in vitro*.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a infecção do fungo em estágios móveis de desenvolvimento de *T. urticae*;
- Avaliar a infecção do fungo em estágios imóveis de desenvolvimento de *T. urticae*;
- Verificar possíveis interferências no desenvolvimento de *T. urticae*;
- Apresentar um protocolo eficiente para controle de *T. urticae* empregado em cultivo do mamoeiro;
- Fornecer informações para o controle biológico de *Tetranychus urticae* a produtores no âmbito regional e nacional.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AQUISIÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO DE ORIGEM FÚNGICA

As linhagens de *Beauveria bassiana* (URM202), *Isaria facinora* (URM1355) e *Isaria javanica* (URM4995) foram cedidas pela Micoteca/URM, do Departamento de Micologia, da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE. Uma segunda linhagem de *Beauveria bassiana* foi adquirida por fontes comerciais e utilizada nesse estudo para devidas comparações com as linhagens da Micoteca/URM.

4.2 CULTURA E PRODUÇÃO DE ESPOROS DE *Beuaveria bassiana* e *Isaria* spp.

Os fungos foram crescidos em meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), em placas de Petri incubadas em câmara BOD (Biological Oxygen Demand), a $28 \pm 1^\circ \text{C}$, umidade relativa (UR) $60 \pm 10\%$, durante aproximadamente 12 dias. Posteriormente, adicionados 10 ml de água destilada autoclavada com Tween 80 (0,05% v/v) às placas de Petri, e efetuou-se a suspensão dos conídios da superfície das mesmas, com o auxílio de alça Drigalski. O material removido foi diluído em água estéril e levado a Câmara de Neübauer para contagem de conídios (FERREIRA, 2004). A concentração de todas as linhagens de *Beauveria bassiana* e de *Isaria* spp. foram ajustadas para 10^8 conídios/mL⁻¹.

4.3 BIOENSAIOS COM *Tetranychus urticae* (Koch)

Os procedimentos foram conduzidos no Laboratório de Seletividade de Produtos Químicos (LSPQ), do Setor de Fitossanidade do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por sete tratamentos, sendo quatro linhagens fúngicas que correspondiam a *Isaria facinora* (URM1355), *Isaria javanica* (URM4995), *Beauveria bassiana* (URM202), *Beauveria bassiana* de fontes comerciais; dois acaricidas comerciais: o primeiro foi Espirodiclofeno que possui atuação inibitória da enzima acetil-CoA carboxilase e afeta todos os estágios de desenvolvimento do ácaro, incluindo ovos e, portanto, foi utilizado como controle positivo no experimento de ovos a adultos; e o segundo produto continha ingrediente ativo – abamectina e foi utilizado no controle positivo do experimento com ninfas

a adulto; e água destilada com Tween 80 (0,05% v/v) foi utilizado como controle negativo. Cada tratamento constituído por 22 repetições (placas), e cada repetição com cinco exemplares de cada estágio de desenvolvimento, ovo ou ninfa, como descrito abaixo.

Dessa forma, o trabalho foi constituído por dois bioensaios: 1) Bioensaio de fases imóveis, com seis tratamentos (Água destilada com Tween 80; Espirodiclofeno; *Beauveria bassiana* de origem comercial; *Beauveria bassiana* regional; *Isaria farinosa*; *Isaria javanica*); e 2) Bioensaio das fases móveis, com seis tratamentos (Água destilada com Tween 80; Abamectina; *Beauveria bassiana* de origem comercial; *Beauveria bassiana* regional; *Isaria farinosa*; *Isaria javanica*).

4.4 COLETA DE *Tetranychus urticae*

Os ácaros foram coletados em fazendas localizadas no município de Mossoró (RN) e Aracati (CE), a partir de plantações de mamoeiro infestadas com *T. urticae*. O período de coleta levou em consideração a ausência da aplicação de pesticida no local. As plantas de mamoeiro com folhas infestadas com a praga foram podadas e armazenadas em envelopes de papel, devidamente acondicionados em caixas térmicas com gelo em seu interior, visando diminuir a atividade do ácaro durante o percurso até o laboratório, no qual realizou-se a identificação da espécie, bem como todo o procedimento de criação massal e ensaios subsequentes.

4.5 CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE *Tetranychus urticae*

Após identificação, os ácaros da espécie *Tetranychus urticae* foram transferidos para plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), mantidas em condições similares as citadas por Sato et al. (2007). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação do CCA, transferidas para laboratório após surgir segundo par de folhas definitivas, periodicamente infestadas com a população de *T. urticae*, e mantidas em câmaras climatizadas (BOD) a 25 ± 1 °C, com UR de 60 ± 10 % e fotoperíodo de 12 h.

4.6 TRATAMENTOS SOBRE AS FASES IMÓVEIS DE *Tetranychus urticae*

Ovos de *T. urticae* foram contaminados com os tratamentos em testes para detecção de possíveis interferências no processo de desenvolvimento embrionário e/ou eclosão. Cada parcela constituída por 22 repetições/tratamento, com cinco ovos cada, totalizando 110 ovos por tratamento. Para aquisição dos ovos, quatro fêmeas e dois machos foram transferidos da

criação estoque para discos foliares com nove cm de diâmetro, preparados a partir das folhas cotiledonares de *Canavalia ensiformes* L.; os discos foliares foram dispostos individualmente em esponjas de poliuretano umedecidas. Os ácaros permaneceram nos discos por 24 horas, para a cópula e oviposição. Após este período, os adultos foram eliminados e apenas cinco ovos fizeram parte de cada parcela. As contaminações dos discos foliares contendo os ovos se deu por meio de auxílio de um pulverizador manual, adaptado para depositar $1,5 \pm 0,5$ mg/cm² da área foliar. As parcelas foram acondicionadas em BOD, sob as mesmas condições controladas citadas anteriormente (Tópico 4.6). As esponjas permaneceram em placas de Petri, sendo periodicamente umedecidas com água destilada, durante o período de avaliação (Adaptado de Silva et al., 2009).

4.7 TRATAMENTOS SOBRE AS FASES MÓVEIS DE *Tetranychus urticae*

Ninfas de *T. urticae* foram contaminadas com os tratamentos em testes para detecção de infecção em estágios móveis, onde há maior contato entre o organismo e a folha. Cada parcela constituída por 22 repetições/tratamento, com 5 ninfas cada, totalizando 110 ninfas por tratamento. As ninfas foram obtidas a partir da aquisição de ovos como descrito anteriormente. As ninfas que foram agrupadas nas parcelas para a aplicação dos produtos, como descrito anteriormente, com auxílio de um pulverizador manual. Em seguida, os discos foliares foram cercados com algodão umedecido (para evitar a fuga dos adultos provenientes dessas ninfas) e armazenados em BOD, sob as mesmas condições controladas citadas anteriormente. As esponjas permaneceram sobre placas de Petri e foram periodicamente umedecidas com água destilada, durante o período de avaliação (POLETTI, 2008; Adaptado de Silva et al., 2009).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados resultantes do procedimento experimental foram analisados com software Graphpad Prism®. A avaliação da eficiência dos tratamentos foi calculada pela fórmula de Abbott (NAKANO et al., 1981). Inicialmente os dados passaram por uma análise de normalidade, através do teste de Shapiro-Wilk. A determinação da significância estatística foi realizada através da comparação dos dados por análise de variância (ANOVA *one way*) e teste *pos hoc* de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos, a 5% de significância. A eficiência agrônômica foi estabelecida através da correção dos valores da mortalidade natural (referente

ao controle negativo) com a fórmula de Abbot (Abbott, 1925), descrita a seguir, para o cálculo da eficiência de cada tratamento em promover a mortalidade ou inibir a eclosão.

Fórmula de Abbot:

$$\%E = \left\{ \frac{(T-I)}{T} \right\} * 100$$

E = eficiência dos tratamentos em porcentagem;

T = número de insetos vivos na testemunha;

I = número de insetos vivos no tratamento.

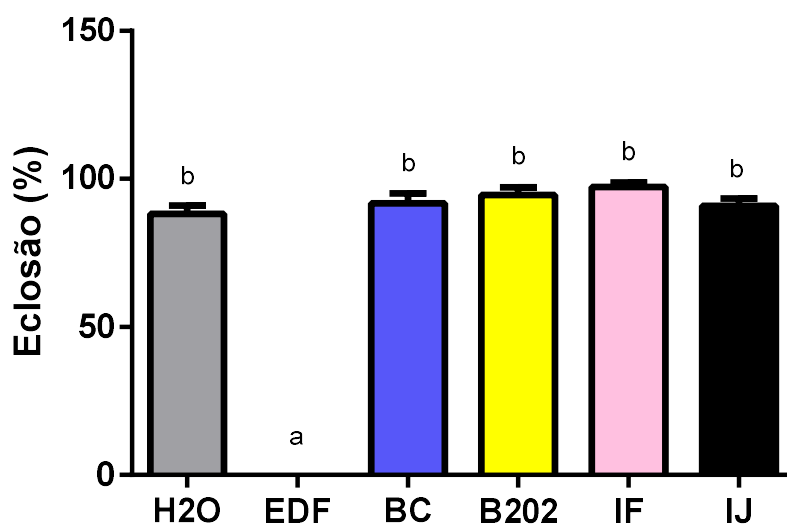
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Bioensaio das fases imóveis

O bioensaio das fases imóveis não revelou atividade toxicológica no desenvolvimento embrionário de *T. urticae* quando submetido aos tratamentos a base dos fungos *Beauveria bassiana* ou *Isaria* spp. O único resultado significativo ($p < 0,05$) foi observado com o uso do acaricida espirodiclofeno que inibiu em 100% a taxa de eclosão de ovos de *T. urticae* (Figura 4), impedindo a eclosão de ovos do ácaro-rajado mostrando-se um potencial acaricida no combate dessa praga, diferindo significativamente dos demais tratamentos.

A não ocorrência do retardo na eclosão de ovos, pode está relacionado com a baixa infecção pelo menor contato de organismos com os esporos fúngicos, uma vez que os ovos estão em posição imóvel, obtendo contato apenas com esporos que atingiram-os durante a pulverização.

Figura 4: Taxa de eclosão de *T. urticae* em bioensaio das fases imóveis após 13 dias da aplicação dos tratamentos.



H2O: Água destilada; EDF: Espirodiclofeno; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*. Letras indicam diferença estatística quando $p < 0,05$.

A taxa de mortalidade de ovos no bioensaio das fases imóveis revelou que apenas os tratamentos Espirodiclofeno (EDF) e *Beauveria* comercial (BC) obtiveram resultados significantes, com taxas de 96% e 61% respectivamente, promovendo letalidade sobre todas as fases de desenvolvimento de *T. urticae*. Os demais tratamentos não diferiram entre si e do controle negativo (H₂O) (Figura 5).

Durante o processo de infecção fúngica, muitas barreiras precisam ser ultrapassadas até que se chegue ao estado de virulência comprovada de um microrganismo a uma praga. A maioria das pragas são predominantemente dependentes de defesas cuticulares, humorais e celulares para resistir a patógenos fúngicos. A cutícula é a principal e possivelmente a barreira mais importante no processo de infecção fúngica. Ácidos graxos fungistáticos, fenoloxidasas e melaninas podem ajudar a resistir à penetração da cutícula (WRAIGHT et al. 1990). Se o patógeno é capaz de romper a cutícula, então ele passará por uma segunda barreira, que é as defesas humoral e celular do hospedeiro (HAJEK; St. LEGER, 1994).

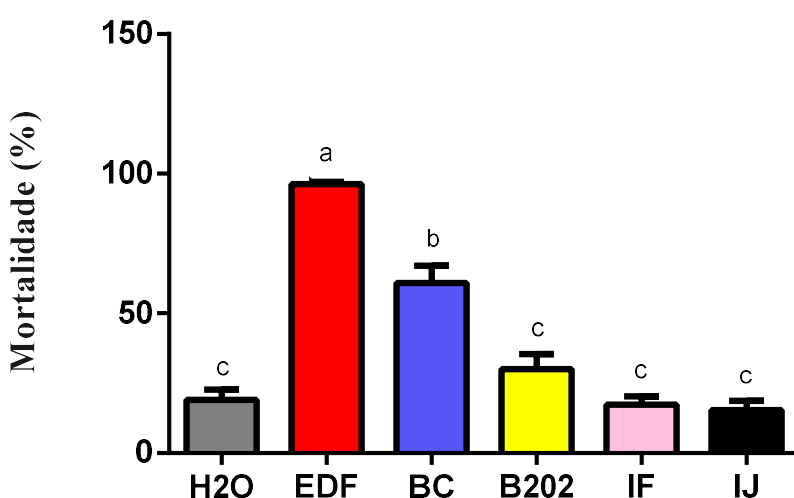
Em suma, esses ácaros desfrutam de um sistema de defesa eficaz, que lhe torna resistente a diversos acaricidas decorrente de seu uso excessivo. O aumento do uso de fungos entomopatogênicos para controle de pragas, abre espaço para o questionamento sobre a possibilidade de ocorrer resistência a esses agentes da mesma forma que desenvolveram resistência a pesticidas químicos.

De acordo com Dubovskiy e colaboradores (2014) adaptações microevolutivas e mecanismos de resistência a fungos patogênicos foram explorados em uma população melânica da traça grande da cera (*Galleria mellonella*). Sob pressão seletiva constante do fungo patogênico *Beauveria bassiana*, onde larvas de 25ª geração apresentaram resistência significativamente aumentada, específica para este patógeno e não para outro fungo entomopatogênico, o *Metarhizium anisopliae*. A hipótese é que os insetos desenvolveram uma resistência transgeracional condicionada ao fungo *B. bassiana*. Uma gama de fatores putativos de gerenciamento de estresse (por exemplo, antioxidantes) também é ativada durante a resposta específica de insetos selecionados a *B. bassiana*, mas não a *M. anisopliae*. Isso também ocorre principalmente no tegumento e contribui de forma segura para a defesa antifúngica e/ou ajuda a melhorar o dano infligido pelo fungo ou as próprias respostas imunes do hospedeiro. Todavia para o presente estudo, faz-se necessários trabalhos mais aprofundados e posteriores a este, para confirmar uma hipótese desse tipo.

Outros estudos têm apresentado resultados não favoráveis ao uso de *B. bassiana* e suas formulações como verificou Moro e colaboradores (2011) no qual testaram o potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *T. urticae* em mamoeiro: efeito de cultivares

sobre a patogenicidade de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Lecanicillium longisporum*. Neste caso, *B. bassiana* foi testada em sua formulação comercial BOVERIL® WP, (bioinseticida registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sob o nº 4902, que atua no controle do ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch.), assim como os demais fungos, onde apresentou um baixo percentual de infecção quando comparado a outrem. Ainda, Moraes e colaboradores (2008) ao avaliarem a dinâmica populacional de dois ácaros predadores na presença de *T. urticae* em morango e comparar a eficiência de controle dos predadores com acaricida e com um inseticida biológico a base de *B. bassiana*, identificaram que *B. bassiana* não diferiu significativamente do grupo controle. Tamai e colaboradores (1999), em seu trabalho, mostrou que apesar de patogênico, o isolado 447 de *B. bassiana* não é eficiente para o controle de *T. urticae*.

Figura 5: Taxa de mortalidade de *T. urticae* em bioensaio as fases imóveis após 13 dias da aplicação dos tratamentos.

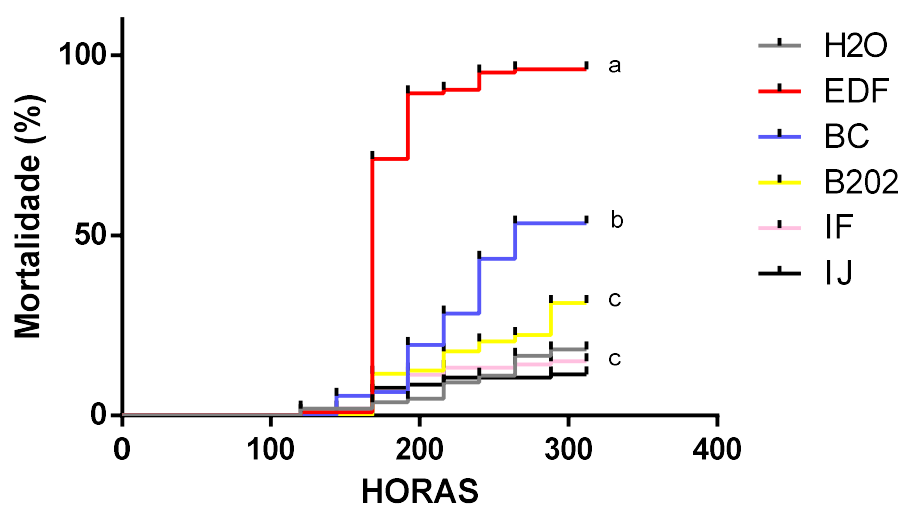


H2O: Água destilada; EDF: Espirodiclofeno; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*. Letras indicam diferença estatística quando $p < 0,05$.

Os tratamentos apresentaram respostas na mortalidade a partir do sexto dia de aplicação no bioensaio das fases imóveis, com resultados gradativos e um pico de mortalidade observado para Espirodiclofeno (EDF), nesse mesmo período (Figura 6). A mortalidade apresentada pelo tratamento *Beauveria* comercial (BC) foi observado após o período de

eclosão, ou seja, o tratamento não inibe a eclosão, mas apresenta patogenicidade para as fases jovens até adulto, fases onde ocorrem maior contato dos organismos com esporos fúngicos, o que fomenta a mesma hipótese anteriormente mencionada, para a não ocorrência do retardo na eclosão de ovos.

Figura 6. Taxa de mortalidade de *T. urticae* a partir do tempo em bioensaio das fases imóveis.



H2O: Água destilada; EDF: Espirodiclofeno; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*. Letras indicam diferença estatística quando $p < 0,05$.

A eficiência agrônômica foi verificada para cada tratamento, de acordo com a fórmula de Abbot (Tabela 2). O tratamento *Beauveria bassiana* comercial (BC) apresenta valores de eficiência comprovada em 52% no décimo terceiro dia de tratamento, ficando atrás apenas da testemunha Espirodiclofeno (EDF), com total de 96% de eficiência comprovada no décimo terceiro dia de tratamento.

C

Tabela 2. Taxa de mortalidade de *T. urticae* e eficiência agronômica do bioensaio das fases imóveis.

Tratamentos		Tempo (Dias)									
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
BC	Média ± EP	0	0	5 ± 2,25	5 ± 2,35	16 ± 3,87	24 ± 5,83	36 ± 6,12	45 ± 6,83	54 ± 6,36	61 ± 6,10
	%E	0	0	3	4	13	20	30	38	45	52
B202	Média ± EP	0	0	0	12 ± 3,64	13 ± 3,61	18 ± 4,73	21 ± 4,83	23 ± 4,98	27 ± 5,51	30 ± 5,39
	%E	0	0	0	8	9	10	11	8	11	13
IJ	Média ± EP	1 ± 0,91	1 ± 0,91	1 ± 0,91	8 ± 2,84	9 ± 2,86	11 ± 3,15	11 ± 3,15	11 ± 3,15	12 ± 3,13	15 ± 3,20
	%E	0,9	-0,9	-0,9	5	5	2	0	-6	-8	-4
IF	Média ± EP	0	0	2 ± 1,25	6 ± 2,42	11 ± 3,15	13 ± 3,10	13 ± 3,10	14 ± 3,33	15 ± 3,27	18 ± 3,20
	%E	0	0	0	3	7	4	2	-3	-4	-1
EDF	Média ± EP	0	1 ± 0,91	1 ± 0,91	64 ± 4,08	81 ± 3,83	89 ± 3,15	94 ± 2,42	95 ± 2,35	96 ± 1,68	96 ± 1,68
	%E	0	-1	-1	62	80	88	93	93	96	96

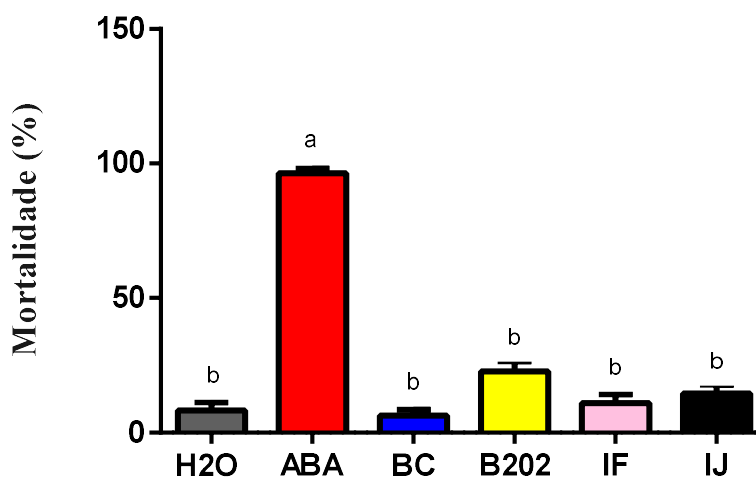
H2O: Água destilada; EDF: Espirodiclofeno; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*; %E: eficiência agronômica; EP: erro padrão.

5.2 Bioensaio das fases móveis

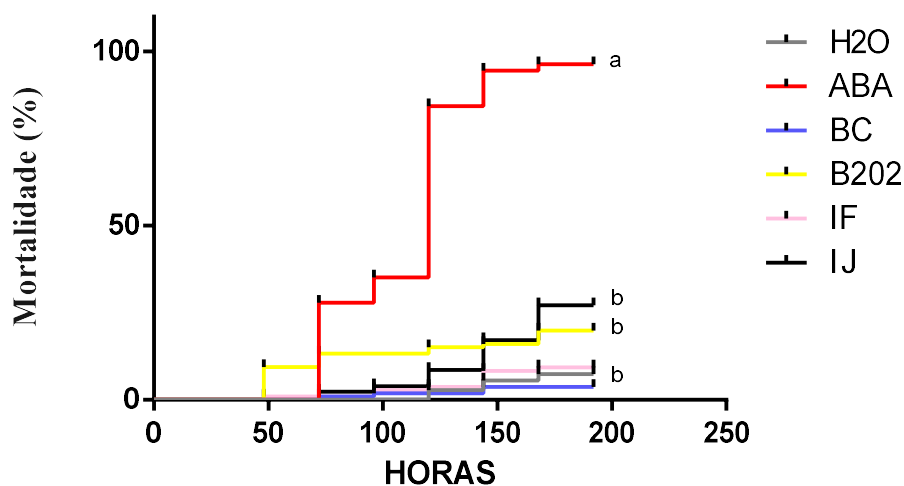
O bioensaio de fases móveis não revelou atividade significativa dos tratamentos de origem fúngica. Apenas obteve-se resultado significativo ($p < 0,05$) com o uso do acaricida abamectina, que teve resultado efetivo na taxa de mortalidade de ninfas e adultos de *T. urticae* (Figura 7). Esse resultado pode ser observado no gráfico de mortalidade em função do tempo, com início da mortalidade a partir de 48 horas da aplicação dos tratamentos (Figura 8).

A abamectina apresentou efeito letal de 96% (Tabela 3) sobre o desenvolvimento do ácaro rajado. Esse resultado condiz com o efeito neurotóxico que acarreta em paralisia das larvas. Uma vez que o animal tem suas funções motoras prejudicadas, como perda do movimento da bomba faríngea, não podendo mais se alimentar e consequentemente causando a morte desses organismos (WOLSTENHOLME; ROGERS, 2005; ABAMECTIN NORTOX, 2017).

Figura 7: Taxa de mortalidade de *T. urticae* em bioensaio das fases móveis após 8 dias da aplicação dos tratamentos.



H2O: Água destilada; ABA: Abamectina; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*. Letras indicam diferença estatística quando $p < 0,05$.



H2O: Água destilada; ABA: Abamectina; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*. Letras indicam diferença estatística quando $p < 0,05$.

Na taxa de mortalidade do bioensaio de fases móveis, os valores foram ajustados de acordo com sua eficiência agrônômica para cada tratamento, a partir da fórmula de Abbot (Tabela 3). O tratamento Abamectina (ABA), mostrou maiores valores de eficiência mais precisamente chegando a 96%, nos dias oitavo dia de tratamento. Todos os outros tratamentos apresentaram baixa eficiência.

Tabela 3. Taxa de mortalidade de *T. urticae* e eficiência agronômica do bioensaio das fases móveis.

Tratamentos		Tempo (Dias)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
BC	Média ± EP	0	1 ± 0,91	1 ± 0,91	2 ± 1,25	2 ± 1,25	4 ± 1,68	4 ± 1,68	6 ± 2,03
	%E	0	1	1	2	-1	-1	-3	-2
B202	Média ± EP	0	9 ± 2,86	13 ± 3,10	13 ± 3,10	15 ± 3,27	15 ± 3,46	19 ± 3,35	23 ± 3,79
	%E	0	9	13	13	12	11	14	16
IJ	Média ± EP	0	1 ± 0,91	2 ± 1,25	2 ± 1,25	5 ± 1,94	10 ± 2,87	12 ± 3,13	15 ± 3,27
	%E	0	1	2	2	3	6	6	7
IF	Média ± EP	0	1 ± 0,91	1 ± 0,91	3 ± 1,50	4 ± 1,68	8 ± 3,13	9 ± 3,15	11 ± 3,41
	%E	0	1	1	3	1	4	3	3
ABA	Média ± EP	0	0	27 ± 8,88	35 ± 9,04	83 ± 7,36	93 ± 3,10	94 ± 3,05	96 ± 1,68
	%E	0	0	27	35	82	92	93	96

H2O: Água destilada com Tween 80; EDF: Abamectina; BC: *Beauveria bassiana* de origem comercial; B202: *Beauveria bassiana* regional; IF: *Isaria farinosa*; IJ: *Isaria javanica*; %E: eficiência agronômica; EP: erro padrão.

Neste experimento houve uma maior dificuldade de se controlar o ácaro mesmo no tratamento de *B. bassiana* comercial que obteve resultados significativo no bioensaio de fases imóveis. Estudos conduzidos por Neves e colaboradores (1997) sobre a infecção de *T. urticae* por *B. bassiana* suportam que até as 48 horas após a inoculação ocorrem as fases de germinação de conídios e penetração do fungo pela cutícula do ácaro, fases essas que precedem a colonização no interior do hospedeiro que se caracteriza, de modo geral, por ocasionar distúrbios na fisiologia normal do organismo alvo (Alves, 1998; Alves & Pereira, 1998). Outros estudos sustentam a ideia, afirmando que *B. bassiana* necessita de 3 a 5 dias para causar a morte de *T. urticae* (TAMAI, 1998; TAMAI et al., 1999) comparado com o efeito quase imediato de muitos produtos químicos.

Considerando estes estudos e o fato de que as linhagens de uma mesma espécie podem diferir em termos de variabilidade genéticas e conseqüentemente, comportamentais, pode-se inferir que o fato de ocorrer infecção e mortalidade no bioensaio de fases imóveis e não ocorrer o mesmo em fases móveis, pode está relacionado a duas possibilidades: a primeira ao tempo de de exposição, no qual assume que os fungos testados necessitam de um maior tempo entre infecção, colonização e morte da praga alvo; a segunda possibilidade assume que as fases imaturas são mais suscetíveis a infecção do que as fases jovens em termos de sensibilidade.

Na busca de um programa de controle microbiano de pragas eficiente, é de fundamental importância, a escolha das linhagens e/ou isolados apropriados do agente biológico. Para tanto, é importante contar com um banco de isolados com variabilidade genética comprovada e que seja devidamente preservado, para então, iniciar o programa a partir da seleção dos materiais mais promissores. A variabilidade genética entre isolados de uma mesma espécie de fungo é amplamente relatada na literatura. Muitos dos trabalhos conduzidos para espécies de interesse entomológico foram feitos com *M. anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *B. bassiana*, em muitos casos, como testes iniciais visando à utilização em programas de controle microbiano.

6 CONCLUSÃO

Para todas as linhagens fúngicas, o que se observou foi uma baixa patogenicidade do isolados de *B. bassiana* e *Isaria* spp. tanto no bioensaio das fases móveis quanto no bioensaio das fases imóveis de *T. urticae*, exceto para a linhagem de *B. bassiana* comercial, nesse último bioensaio, onde apresentou 52% de eficiência comprovada na mortalidade do ácaro-rajado.

REFERÊNCIAS

- ABAMECTIN NORTOX: Disponível em http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/abamecti_nortox.pdf. Acesso em 19/03/2019.
- AGRIANUAL - **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, p. 350-372, 2007.
- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em Abril de 2018.
- ALBUQUERQUE, F. A.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; TORRES, J. B. Efeito de inseticidas e acaricidas sobre ovos e fêmeas adultas do ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.13, p.1-8, 2003.
- ÁLVAREZ-BAZ, G.; FERNÁNDEZ-BRAVO, M.; PAJARES, J.; QUESADA-MORAGA, E. Potential of native *Beauveria pseudobassiana* strain for biological control of pine wood nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.132, p.48-56, 2015.
- ALVES, S. B. Perspectivas para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, p.77-86, 1992.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; VIEIRA, A. S.; TAMAI, M. A. Fungos Entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B.(Eds.). **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba. FEALQ, p.69-110, 2008.
- ALVES, S. B.; MORAIS, S. A.; PEREIRA, R. M. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2ª ed., 1163pp., 1998.
- ALVES, S. B.; ROSSI, L. S.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; PEREIRA, R. M. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal Invertebrate. Pathology**, n.81, p.70-77, 2002.
- ANDRADE, J. S. **Acaricidas para o manejo de *Tetranychus urticae* em mamoeiro: toxicidade e resistência no norte do Espírito Santo**. Tese de Doutorado em Produção Vegetal – Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, p. 117, 2009.
- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas; guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 6ª ed., 672pp., 1999.
- ASHLEY, J. L.; HERBERT, D. A.; LEWIS, E. E.; BREWSTER, C. C.; HUCKABA, R. Toxicity of three acaricides to *Tetranychus urticae* (Tetranychidae: Acari) and *Orius*

insidiosus (Anthocoridae: Hemiptera). **Journal of Economic Entomology**, v.99, p.54-59, 2006.

AY, R. Determination of susceptibility and resistance of some greenhouse populations of *Tetranychus urticae* Koch to *chlorpyrifos* (Dursban 4) by the petri dish–Potter tower method. **Journal of Pest Science**, v.78, p.139–143, 2005.

BEERS, E. H.; RIEDL, H.; DUNLEY, J. E; Resistance to abamectin and reversion to susceptibility to fenbutatin oxide in spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in the pacific northwest. **Journal Economic Entomology**, v.91, p.352-360, 1998.

BENHAM, R. W.; MIRANDA, J. L. The genus *Beuaveria*, morphological and taxonomical studies of several species and of two strains isolated from wharf-piling. **Mycologia**. v.45, p.727-745, 1953.

BIDOCHKA, M. J.; KACHATOURIANS, G. G. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.56, p.362-370, 1990.

BOOMSMA, J. J.; JENSEN, A. B.; MEYLING, N. V; EILENBERG, J. Evolutionary interaction networks of insect pathogenic fungi. **Annual Review of Entomology**, v.59, p.467-485, 2014.

BROOME, J. R.; SIKOROWSKI, R. P.; NORMENT, B. R. A mechanism of pathogenicity of *Beauveria bassiana* on the larvae of the *Solenopsis richteri*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.28, p.87-91, 1976.

BUTT, T. M.; WALDEN, S. Fungal biological control agents. **Pesticide**, v.11, p.186-191, 2000.

CAFARCHIA, C.; IMMEDIATO, D.; IATTA, R.; RAMOS, R. A. N.; LIA, R. P.; PORRETTA, D.; OTRANTO, D. Native strains of *Beauveria bassiana* for the control of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato. **Parasites & Vectors**, v.8, n.1, p. 80, 2015.

CARVALHO, R. S. Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias. **Circular técnica 83 da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, v.7, n.3, p.14-17, 2006.

CHAGAS, F.; POLONIO, J. C.; COLLA RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C.; ALENCAR PAMPHILE, J.; CONTE, H. Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil). **Ciência e Natura**, v.38, n.2, p.637-11, 2016.

CHIAVEGATO, L. G.; MISCHAN, M. M.; COTAS, M. P. Resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) proveniente de diferentes regiões algodoeiras aos acaricidas. **Científica**, v.11, p.57-62, 1983.

COUTO, A. O. F.; LIMA, R. C. A.; ANDRADE, J. S.; TATAGIBA, J. S.; FANTON, C. J.; MARTINS, D. S.; VENTURA, J. A.; COSTA, H. Ocorrência e Incidência de Pragas e Doenças na Cultura do Mamoeiro na Região Produtora do Estado do Espírito Santo. **Anais do**

Seminário Brasileiro de Produção Integrada de Frutas, v.5, Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA Uva e Vinho, p.106, 2003.

DALZOTO, P. R.; & UHRY, K. F. Controle biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Biológico**, (divulgação técnica). São Paulo, v.71, n.1, p.37-41, 2009.

DANTAS J. L.; JUNGHANS D. T. **Mamão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Área de Informação da Sede - Colec Criar, Plantar, ABC, 500P/500R (INFOTECA-E), 1ª ed., 151pp., 2003.

DEMIRCI, F.; MUSTU, M.; KAYDAN, M. B.; ULGENTURK, S. Laboratory evaluation of the effectiveness of the entomopathogen; *Isaria farinosa*, on citrus mealybug, *Planococcus citri*. **Journal of Pest Science**, v.84, n.3, p.337-342, 2011.

DENNEHY T. J.; GRAFTON-CARDWELL, E. E.; GRANETT, J.; BARBOUR, K. Practitioner-assessable biosassay for detection of dicofol resistance in spider mites (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v.80, n.5, p.998–1003, 1987.

DEPIERI, R. A; MARTINEZ, S. S.; MENEZES Jr., A. O. Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. **Neotropical Entomology**, v.34, p.601-606, 2005.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. San Francisco: Editora IHW-Verlag, 2ª ed., pp.672, 2007.

DRAGANOVA, S.; SIMOVA, S. Susceptibility of *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) to isolates of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Pesticides Phytomedicine**, v.25, n.1, p.51-57, 2010.

DUBOVSKIY, I. M.; WHITTEN, M. M.; YAROSLAVTSEVA, O. N.; GREIG, C.; KRYUKOV, V. Y.; GRIZANOVA, E. V.; MUKHERJEE, K; VILCINSKAS A.; GLUPOV, V. V.; BUTT, T. M. Can insects develop resistance to insect pathogenic fungi? **PloS one**, v. 8, n. 4, p.60-248, 2013.

EDGE, V. E.; JAMES, D. G. Organo-tin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in Australia. **Journal of Economic Entomology**, v.79, p.1477-1483, 1986. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Coleção 500 perguntas, 500 respostas: Mamão. 2ª. Edição revisada e atualizada. Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, DF, p.119, 2013.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Coleção Plantar: Mamão. 3ª. Edição revisada e ampliada. Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, DF, p.119, 2009.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Controle Biológico**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/tema-controle-biologico/sobre-o-tema>>. Acesso em Março 2018.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivos de mamão**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/mamao>. Acesso em Março de 2018.

FANTON, C. J.; ARLEU, R. J.; MARTINS, D. S. Fitotoxidez de inseticidas/acaricidas na cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.) grupo Solo. **International Symposium on Tropical Fruits**. Vitória, ES: EMCAPA, p.17, 1993.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**.

<<http://faostat3.fao.org/home/e>>. Acesso em Fevereiro de 2019.

FASULO, T. R.; DENMARK, H. A. Twospotted Spider Mite, *Tetranychus Urticae* Koch (Arachnida: Acari: Tetranychidae). University of Florida Cooperative Extension Service, **Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS**, v.1, p.1-5, 2000.

FERREIRA, U. L. **Caracterização fisiológica e enzimática de *Metarhizium spp* por eletroforese, análise em meios específicos e a atividade quitinolítica a partir da degradação da cutícula de *Boophilus microplus***. 2004. 112 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, 2004.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo: Nobel, p.189, 1981.

FLEXNER, J. L.; WESTIGARD, P. H.; CROFT, B. A. Field reversion of organotin resistance in the twospotted spidermite (Acari: Tetranychidae) following relaxation of selection pressure. **Journal of Economic Entomology**, v.81, p.1516-1520, 1988.

GRÄFF, C. A.; JOHANN, L.; SOUZA, C. F. V.; FERLA, N. J. Patogenicidade de *Isaria fumosorosea* sobre o ácaro vermelho europeu em laboratório. **Biotemas**, v.30, n.1, p.73-78, 2017.

HAJEK A. E; St. LEGER R. J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology**, v. 39, p. 293–322, 1994.

HASAN, W. A.; ASSAF, L. H.; ABDULLAH, S. K. Occurrence of entomopathogenic and other opportunistic fungi in soil collected from insect hibernation sites and evaluation of their entomopathogenic potential. **Bulletin of the Iraq Natural History Museum**, v.12, n.1, p.19-27, 2012.

HAWKINS, B. A.; CORNELL, H. V. Theoretical approaches to biological control. **Cambridge: Cambridge University**, v.1, p.412, 1999.

HEADRICK, D. H.; GOEDEN, R. D. Biological control as a toll for ecosystem management. **Biological Control**, v.21, p.249-257, 2001.

HERRON, G. A.; EDGE, V. E.; ROPHAIL, J. The influence of fenbutatin-oxide use on organotin resistance in two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.18, p.753-755, 1994.

HERRON, G. A.; EDGE, V. E.; WILSON, L. J.; ROPHAIL, J. Organophosphate resistance in spider mites (Acari: Tetranychidae) from cotton in Australia. **Experimental and Applied Acarology**, v.22, p.17–30, 1998.

HERRON, G. A.; ROPHAIL, J. First detection of chlorfenapyr (Secure®) resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from nectarines in an Australian orchard. **Experimental and Applied Acarology**, v.31, p.131–134, 2003.

HERRON, G. A.; ROPHAIL, J.; WILSON, L. J. Chlorfenapyr resistance in twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. **Experimental and Applied Acarology**, v.34, p.315–321, 2004.

HERRON, G. A.; ROPHAIL, J.; WILSON, L. J. The development of bifenthrin resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. **Experimental and Applied Acarology**, v.25, p.301–310, 2001.

HOY, M. A.; CONLEY, J.; ROBINSON, W. Cyhexatin and fenbutatin-oxide resistance in pacific spider mite (Acari: Tetranychidae): stability and mode of inheritance. **Journal of Economic Entomology**, v.81 p.57-64, 1988.

HUMBER, R. A. Entomophthoromycota: a new phylum and reclassification for entomophthoroid fungi. **Mycotaxon**, v.120, p.477-492, 2012.

IMMEDIATO, D.; CAMARDA, A.; IATTA, R.; PUTTILLI, M. R.; RAMOS, R. A. N.; DI PAOLA, G.; & CAFARCHIA, C. Laboratory evaluation of a native strain of *Beauveria bassiana* for controlling *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778)(Acari: Dermanyssidae). **Veterinary Parasitology**, v.212, n.3-4, p.478-482, 2015.

IMMEDIATO, D.; IATTA, R.; CAMARDA, A.; GIANGASPERO, A.; CAPELLI, G.; FIGUEREDO, L. A.; OTRANTO, D.; CAFARCHIA, C. Storage of *Beauveria bassiana* Conidia Suspension: A Study Exploring the Potential Effects on Conidial Viability and Virulence against *Dermanyssus gallinae* de Geer, 1778 Acari: Dermanyssidae. **Annals of Biological Sciences**, v.5, n.2, p.69-76, 2017.

INGLIS, G. D.; GOETTEL, M. S.; BUTT, T. M.; STRASSER, H. Use of *Hyphomycetous fungi* for managing insect pests. In: Butt, T. M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), *Fungi as Biocontrol agents: Progress, Problems and Potencial*. **CAB International**, p.225-237, 2001.

ISMAIL, M. S. M.; SOLIMAN, M. F. M.; NAGGAR, M. H. E.; GHALLAB, M. M. Acaricidal activity of spinosad and abamectin against two-spotted spider mites. **Experimental and Applied Acarology**, v.43, p.129–135, 2007.

ITAFORTE BIO PRODUTOS. Controle do ácaro-rajado em ornamentais com *Beauveria bassiana*. Disponível em: <<http://www.itafortebioprodutos.com.br/>>. Acesso em Abril de 2018.

KIM, J. S.; JE, Y. H.; WOO, E. O. Roles of adjuvants in aphicidal activity of enzymes from *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) SFB-205 supernatant. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.13, n.4, p.345-350, 2010.

- KIM, Y. J.; LEE, S. H.; LEE, S. W.; AHN, Y. J. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): crossresistance and biochemical resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v.60, p.1001-1006, 2004.
- LACEY, L. A.; FRUTOS, R.; KAYA, H. K.; VAIL, P. Insects pathogens as biological control agentes: do they have a future. **Biological Control**, v.21, p.230-248, 2001.
- LEGER, R. J.; CHARNLEY, A. K.; COOPER, R. M. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: cuticle degradation in vitro by enzymes from entomopathogens. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.47, p.167-177, 1986.
- LEGER, R. J.; JOSHI, L.; BIDOCHKA, M. J.; RIZZO, N. W.; ROBERTS, D. W. Biochemical characterization and ultrastructural localization of two extracellular trypsin produced by *Metarhizium anisopliae* in infected insect cuticles. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, p.1257-1264, 1996.
- LI, F. B.; WANG, C. Y.; YAO, J. F.; FANG, L. J. Biological control of *Cenopalpus lineola* in Mountain Huangshan Scenic Spot by *Paecilomyces catenianulatus*. **Journal of Northeast Forestry University**, v.37, n.7, p.77-78, 2011.
- LOPES, R. J. **USP transforma fungos em bioinseticida**. Folha de S. Paulo. São Paulo. Acesso em < <https://www1.folha.uol.com.br/fsp/ciencia/fe1012200301.htm> > em Abril de 2018.
- LUANGSA-ARD, J. J.; HYWEL-JONES, N. L.; MANOCH, L.; SAMSON, A. On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species. **Mycology Research**, Cambridge, v. 109, n. 5, p. 581-589, 2005.
- MACLEOD, D. M. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill and *Tritirachium* Limber. **Canadian Journal of Botany**, v.32, p.818-893, 1954.
- MARIN, S. L. D. **Efeitos fitotóxicos de inseticidas, acaricidas e fungicidas em mudas de mamoeiro (Carica papaya L.) cv, Solo**. Jaboticabal, SP: FCAVUNESP, (Tese de Mestrado). p.97, 1988.
- MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v.34, p.21675-1680, 2004.
- MARTINS, D. S. Manejo das pragas do mamoeiro. A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. **Vitória: Incaper**, v.1, p.309-344, 2003.
- MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. (Eds.). A Cultura do Mamoeiro: tecnologias de produção. **Vitória: Incaper**, p.231-308, 2003.
- MARTINS, D. S.; MARIN, S. L. D.; CARDOSO, J. E.; CHAGAS, F. **Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial**. Brasília: Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, p.143-153, 1998.

- MEYLING, N. V.; SCHMIDT, N. M.; EILENBERG, J. Occurrence and diversity of fungal entomopathogens in soils of low and high Arctic Greenland. **Polar Biology**, v.35, n.9, p.1439-1445, 2012.
- MILLER, R. W.; CROFT, B. A.; NELSON, R. D. Effects of early season immigration on cyhexatin and formetanate resistance of *T. urticae* (Acari: Tetranychidae) on strawberries in Central California. **Journal of Economic Entomology**, v.78, p.1379-1388, 1985.
- MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p.288, 2008.
- MORAES, S. A.; ALVES, S. B. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, p.765- 777, 1998.
- MORAIS, P.; MORANDI, M.; PEREIRA, R.; COSTA, L. Controle biológico do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1936) (acari: tetranychidae) em morangueiro em cultivo protegido. **Embrapa Meio Ambiente - Artigo em Anais de Congresso (ALICE). Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica**. 2008, Campinas. Anais Campinas: ITAL: IAC; Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.8, 2008.
- MORO, L. B.; POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; DE CARVALHO, J. R.; FRANCO, C. R. Potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em mamoeiro: efeito de cultivares sobre a patogenicidade. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p.267-272, 2011.
- MURRIN, F.; NOLAN, R. A. Ultrastructure of the infection of spruce budworm larvae by the fungus *Entomophaga aulicae*. **Canadian Journal of Botany**, v.65, p.1694-1706, 1987.
- NAKAYAMA, K.; ABREU, J. M.; SCANAVACHI, V. Controle químico do ácaro-rajado, praga do mamoeiro no extremo Sul da Bahia. **Revista Theobroma**, v.16, p.161-171, 1986.
- NEVES, P. J.; TAMAI, M. A.; ALVES, S. B. Processo de infecção e reprodução de *Beauveria bassiana* em *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari, Tetranychidae). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA**, 16., ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTAS, 7., Salvador, 1997. **Anais**. Salvador, p.138-139, 1997.
- OLIVEIRA, C. A. L. Ácaros do mamoeiro. C. Simpósio brasileiro sobre a cultura do mamoeiro, 2. **Jaboticabal: Anais**. Jaboticabal: FCAV-UNESP, p. 197- 205, 1988.
- OMOTO, C. Resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) aos produtos químicos na citricultura. In: OLIVEIRA, C.A.L.; DONADIO, L. C. (ed.) **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, p.179-188, 1995.
- PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; AZEVEDO, J.L. Variabilidade natural no fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.33, n.3, p.657-672, 1990.
- PACHECO, L. F., LIMA, E. P., ARDENGHI, M. J. **Manejo integrado do ácaro**

***Tetranychus urticae* koch (Acari: Tetranychidae) em cultura de pimentão *Capsicum annuum* L.** 60 f. Monografia apresentada ao Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium-UNISALESIANO, Lins-SP, para graduação em Engenharia Agrônômica, 2017.

PASSOS, E. M.; ALBURQUEQUE, A. C.; MARQUES, E. J.; TEIXEIRA, V. W.; SILVA, C. C. M.; OLIVEIRA, M. A. P. Efeitos de isolados do fungo *Isaria* (Persoon) sobre o cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arquivos Instituto Biológico**, v.81, n.3, p.232-237, 2014.

PUCHALSKA, E. K.; KOZAK, M. *Typhlodromus pyri* and *Euseius finlandicus* (Acari: Phytoseiidae) as potential biocontrol agents against spider mites (Acari: Tetranychidae) inhabiting willows: laboratory studies on predator development and reproduction on four diets. **Experimental and Applied Acarology**, v.68, n.1, p.39-53, 2016.

REICHERT, M. B.; TOLDI, M.; RODE, P. A.; FERLA, J. J.; FERLA, N. J. Biological performance of the predatory mite *Neoseiulus idaeus* (Phytoseiidae): a candidate for the control of *Tetranychidae* mites in Brazilian soybean crops. **Brazilian Journal of Biology**, v.77, n.2, p.361-366, 2017.

ROMERO, T. Guerra biológica contra as pragas. **Agência FAPESP**, 2003.

SAITO, T.; TABATA, K.; KOHNO, S. Mechanisms of acaricide resistance with emphasis on dicofol. In: Georgiou, G. P., Saito, T. **Pest Resistance to Pesticides**. New York: Plenum Press, p.429-444, 1983.

SAMSINAKOVA, A.; MISIKOVA, S.; LEOPOLD, J. Action of enzymatic systems of *Beauveria bassiana* on the cuticle of the greater max moth (*Galleria mellonella*). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.18, p.322-330, 1971.

SAMSON, R. A. Paecilomyces and some allied Hyphomycetes. **Studies in Mycology**, v.6, n.6, p.1-119, 1974.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; REIS, P. R. Pragas do mamoeiro. **Informe Agropecuário**, v.12, p.49-53, 1986.

SANTOS, M. D.; DUARTE, M. E.; VALENTE, E. C. N.; BARBOSA, T. J. A.; SILVA, E. S. Eficiência de isolados comerciais de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok (Hypocreales: Cordycipitaceae, Clavicipitaceae) sobre o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v.14, n.2, 2016.

SATO, M. E.; MIYATA, T.; SILVA, M.; RAGA, A.; SOUZA FILHO, M. F. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, crossresistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Applied Entomology and Zoology**, v.39, p.293-302, 2004.

SATO, M. E.; PASSEROTTI, C. M.; TAKEMATSU, A. P.; SOUZA FILHO, M. F.; POTENZA, M.R.; SIVIERI, A. P. Resistência de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) a acaricidas, em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) em Paranapanema e Jundiaí, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, p.117-123, 2000b.

SATO, M. E.; SILVA, M. Z.; CANGANI, K. G.; RAGA, A. Seleções para resistência e suscetibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* ao acaricida clorfenapir. **Bragantia**, v. 66, p.89-95, 2007a.

SATO, M. E.; SILVA, M. Z.; RAGA, A.; SOUZA FILHO, M. F. Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. **Neotropical Entomology**, v.34, p.991-998, 2005.

SATO, M. E.; SILVA, M. Z.; SOUZA FILHO, M. F.; MATIOLI, A. L.; RAGA, A. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry welds with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. **Experimental and Applied Acarology**, v.42, p.107-120, 2007b.

SCORSETTI, A. C.; HUMBER, R. A.; GREGORIO, C.; LASTRA, C. C. L. New records of entomopathogenic fung infecting *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* pests of horticultural crops in Argentina. **BioControl**, v. 53, n. 5, p. 787-796, 2008.

SHARMA, S.; AGARWAL, G. P.; RAJAK, R C. Effect of temperature, pH and light on toxin production by *Beauveria bassiana* (Balls) Vui11. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.30, n.10, p.918-919, 1992.

SHI W. B.; FENG M. G.; LIU S. S. Sprays of emulsifiable *Beauveria bassiana* formulation are ovicidal towards *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at various regimes of temperature and humidity. **Experimental and Applied Acarology**, v.46, p.247-257, 2008.

SHI, W. B.; FENG, M. G. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. **Biological Control**, v.30, n.2, p.165-173, 2004.

SHI, W.; BAND-FENG M. G. Effect of fungal infection on reproductive potential and survival time of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.48, p.229-237, 2009.

SILVA, M.; SATO, M. E.; GONÇALVES, L. R.; SOUZA FILHO, M. F.; RAGA, A. Resistência cruzada a diversos acaricidas em *Tetranychus Urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) resistente a fenpyroximate. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, p.1-145, 2000.

SOUZA-PIMENTEL, G. C.; REIS, P. R.; BONATTO, C. R.; ALVES, J. P.; & SIQUEIRA, M. F. Reproductive parameters of *Phytoseiulus macropilis* (Banks) fed with *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) in laboratory. **Brazilian Journal of Biology**, v.77, n.1, p.162-169, 2017.

SPECHT, A.; AZEVEDO, J. L.; LIMA, E. A. L. A.; BOLDO, J. T.; MARTINS, M. K.; LORINI, L. M.; BARROS, N. M. Ocorrência do fungo entomopatogênico *Isaria javanica* (Frieder & Bally) Samson & Hywell-Jones (Fungi, Sordariomycetes) em lagartas de *Lonomia obliqua* Walker (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, n.3, p.493-494, 2009.

STUMPF, N.; NAUEN, R. Cross resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.1577- 1583, 2001.

SUH, E.; KOH, S.; LEE, J.; SHIN, K.; CHO, K. Evaluation of resistance pattern to fenpyroximate and pyridaben in *Tetranychus urticae* collected from greenhouses and apple orchards using lethal concentration-slope relationship. **Experimental and Applied Acarology**, v.38, p.151–165, 2006.

SUPLICY, F. N.; SOUZA, F. M. F.; TAKEMATSU, A. P.; SATO, M. E. Resistência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch) a acaricidas em roseira, na região de Itapevi, SP. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, p.51- 55, 1994.

TAMAI, M. A.; ALVES S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; FAION, M. 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.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; NEVES, P. J. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against *Tetranychus urticae* Koch. **Scientia Agricola**, v.56, n.2, p.285-288, 1999.

TIAN, T.; GRAFTON-CARDWELL, E. E.; GRANETT, J. Resistance of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to cyhexatin and fenbutatin-oxide in California pears. **Journal of Economic Entomology**, v.85, p.2088-2095, 1992.

TIGANO-MILANI, M. S.; FARIA, M. R.; MARTINS, I.; LECUONA, R. E. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. & *Paecilomyces* sp. em solos de diferentes regiões do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.22, n.2, p.391-393, 1993.

ULLAH, M. S.; LIM U. T. Laboratory bioassay of *Beauveria bassiana* against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on leaf discs and potted bean plants. **Experimental and Applied Acarology**, v.65, p.307–318, 2015.

URTZ, B. E.; RICE, W. C. Purification and characterization of a novel extracellular protease from *Beauveria bassiana*. **Mycological Research**, v.104, p.180-186, 2000.

VALADÃO, G. S.; VIEIRA, M. R.; PIGARI, S. A. A.; TABET, V. G.; SILVA, A. C. D. Resistência de cultivares de videira ao ácaro-rajado *Tetranychus urticae* na região de Jales, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p.1051-1058, 2012.

VALADARES-INGLIS, M. C.; AZEVEDO, J. L. Amylase and protease secretion in recombinant strains of *Metarrhizium anisopliae* var. *anisopliae* following parasexual crosses. **Brazilian Journal of Genetics**, v.20, p.171-175, 1997.

VAN LEEUWEN, T.; STILLATUS, V.; TIRRY, L. Genetic analysis and crossresistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.32, p.249-261, 2004.

VAN LEEUWEN, T.; TIRRY, L.; YAMAMOTO, A.; NAUEN, R.; DERMAUW, W. The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on

recent acaricide mode of action research. **Pesticide biochemistry and physiology**, v.121, p.12-21, 2014.

VAN POTTELBERGE, S.; KHAJEHALI, J.; VAN LEEUWEN, T.; TIRRY, L. Effects of spirodiclofen on reproduction in a susceptible and resistant strain of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.47, p.301–309, 2009.

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

WOLSTENHOLME, A. J.; ROGERS, A. T. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. **Parasitology**, v. 131, p. 85-95, 2005.

WRAIGHT, S. P.; BUTT, T. M.; GALAINI-WRAIGHT S.; ALLEE, L. L.; SOPER R. S.;

ROBERTS, D. W. Germination and infection processes of the entomophthoralean fungus *Erynia radicans* on the potato leafhopper, *Empoasca fabae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 56, p.157–174, 1990.

WRIGHT, M. S.; LAX, A. R. Combined effect of microbial and chemical control agents on subterranean termites. **Journal of Microbiology**, v.51, n.5, p.578-583, 2013.

WRIGHT, S. M.; LAX, R. A. Combined effect of microbial and chemical control agents on subterranean termites. **Journal of Microbiology**, v.51, n.5, p.578-583, 2013.

WU, S.; GAO, Y.; SMAGGHE, G.; XU, X.; LEI, Z. Interactions between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the predatory mite *Neoseiulus barkeri* and biological control of their shared prey/host *Frankliniella occidentalis*. **Biological Control** v.98, p.43–51, 2016.

XU, D.; ALI, S.; HUANG, Z. Insecticidal activity influence of 20-hydroxyecdysone on the pathogenicity of *Isaria fumosorosea* against *Plutella xylostella*. **Biological Control**, v.56, n.3, p.239–244, 2011.

YANG, S.; ZHUANG, H.; LI, Y.; KUANG, R. Insecticidal efficacy of *Isaria farinosa* in different life stages of *Pissodes puctatus* (Coleoptera: curculionidae). **Journal of Pest Science**, v.83, n.4, p.321-325, 2009.

YANG, X.; BUSCHMAN, L. L.; ZHU, K. Y.; MARGOLIES, D. C. Susceptibility and detoxifying enzyme activity in two spider mite species (Acari: Tetranychidae) after selection with three insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.95, p.399-406, 2002.

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

ZHANG X. N.; JIN D. C.; ZOU X; GUO, J. J. Laboratory and field evaluation of an entomopathogenic fungus, *Isaria cateniannulata* strain 08XS-1, against *Tetranychus urticae* (Koch). **Pest Management Science**, v.72, n.5, p.1059–1066, 2016.

ZHANG X. N.; JIN D. C.; ZOU X.; GUO J. J. Screening for entomogenous fungi strain with high toxicity to *Tetranychus urticae*. **Guizhou Agricultural Science**, v.41, n.7, p.98-100, 2013.

ZHANG, X. N.; GUO, J. J.; ZOU, X.; JIN, D. C. Pathogenic differences of the entomopathogenic fungus *Isaria cateniannulata* to the spider mite *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) and its predator *Euseius nicholsi* (Mesostigmata: Phytoseiidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.75, n.1, p.69-84, 2018.

ZHANG, X. N.; JIN, D. C.; ZOU, X.; WANG, S. C.; QU, J. J.; GUO, J. J., Screening of highly virulent strain of *Isaria cateniannulata* against *Tetranychus urticae* and its effect to *Euseius nicholsi*. **Journal of Environmental Entomology**, v.36, n.3, p.372–380, 2014.

ZHANG, Y. B.; WANG, X. L.; FAN, M. Z.; WANG L.; & LI, Z. Z. Diversity of entomogenous fungi and their hosts and population dynamics of the fungi in Masson's pine plantation ecosystem. **Journal of Anhui Agricultural University**, v.34, p.342–347, 2007.