

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

PRISCILA DE ANDRADE RODE

ATIVIDADE DE UM PRODUTO À BASE DE AZADIRACTINA E DE
ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* VISANDO AO CONTROLE DO ÁCARO-
VERMELHO, *Oligonychus yothersi*

CASCADEL - PR

Março - 2020

PRISCILA DE ANDRADE RODE

ATIVIDADE DE UM PRODUTO À BASE DE AZADIRACTINA E DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* VISANDO AO CONTROLE DO ÁCARO-VERMELHO, *Oligonychus yothersi*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais.

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves

CASCADEL-PR

Março – 2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

de Andrade Rode, Priscila

ATIVIDADE DE UM PRODUTO À BASE DE AZADIRACTINA E DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* VISANDO AO CONTROLE DO ÁCARO-VERMELHO, *Oligonychus yothersi* / Priscila de Andrade Rode; orientador(a), Luis Francisco Angeli Alves; coorientador(a), Noeli Juarez Ferla, 2020.

84 f.

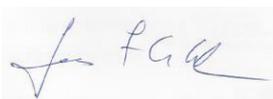
Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, 2020.

1. Controle Biológico. 2. Erva-mate. 3. Ácaro vermelho da Erva-mate. 4. Fungos acaropatógenicos. I. Angeli Alves, Luis Francisco. II. Juarez Ferla, Noeli.

PRISCILA DE ANDRADE RODE

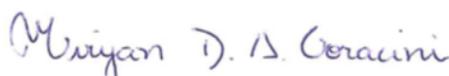
Atividade de um produto à base de azadiractina e de isolados de *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro-vermelho, *Oligonychus yothersi*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, área de concentração Ciências Ambientais, linha de pesquisa Biologia Aplicada e Indicadores de Qualidade no Ambiente Terrestre, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - Luis Francisco Angeli Alves

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



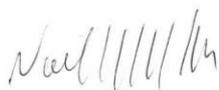
Miryan Denise de Araújo Coracini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Daian Guilherme P. Oliveira

Universidade Federal Tecnológica do Paraná – Santa Helena



Neoli Juarez Ferla

Universidade do Vale do Taquari – Univates

23 de março de 2020

A minha avó Maria Margarida de Andrade (*in
memorian*) pelo amor e dedicação durante toda
a vida

Dedico.

“Enquanto eu respirar vou me lembrar de você”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de dar mais este passo rumo à concretização dos meus sonhos e por ter me sustentado durante os momentos de dificuldade me dando força e disposição para superar cada uma e seguir adiante. Sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais Marlise e Milton, que sempre me deram a oportunidade de estudar, me apoiando e incentivando em todos os momentos da vida.

A minha família, meus irmãos, Pâmela, Poliana, Natanael, aos meus sobrinhos lindos, Rute, Kaue, meu tio Reinaldo, e aos meus avós Maria (*in memoriam*) e Alzemiro. Pela vida de dedicação, apoio e incentivo a lutar pelos sonhos e objetivos. Tê-los comigo é o que me dá força e segurança para seguir. Em especial a minha mãe por ser a pessoa mais especial pra mim, cujo meu amor e gratidão são infinitos. Te amo!

Ao meu namorado Jeferson pelo amor, companheirismo, compreensão e incentivo a seguir lutando pelos meus sonhos.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* Cascavel, ao Programa de Conservação e Manejo de Recursos Naturais pela oportunidade, pela disponibilidade das instalações, equipamentos e materiais que permitiram a conclusão desse ciclo e aos docentes pelo apoio e pelos ensinamentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da bolsa, sem a qual seria impossível a conclusão desta etapa.

A empresa Parry America Inc - Murugappa Group pelo auxílio financeiro.

Ao meu orientador, Professor Doutor Luis Francisco Angeli Alves, pela confiança, ensinamentos e apoio em todas as etapas desta pesquisa.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Noeli Juarez Ferla pelo apoio desde a graduação, pelos ensinamentos, conselhos e incentivo a seguir na área científica.

Ao Laboratório de Acarologia da Univates e aos colegas que sempre

estiveram dispostos a me auxiliar, em especial ao Maicon, a Luana e ao Guilherme S. pela ajuda na realização desta pesquisa.

A professora Ana Tereza ao colega Chrystian pelo auxílio nas análises estatísticas das pesquisas da qualificação e da dissertação.

A Mayara e a Andreia Bonini, pelos ensinamentos nas atividades do laboratório e pelo auxílio recebido sempre que precisei.

Aos colegas de laboratório, Tiago e Bruno pelo auxílio durante a execução das atividades referentes ao projeto. Grata a Jaqueline por ter sido minha motorista em todas as coletas realizadas.

Em especial, quero agradecer a Jaqueline e a Cristina, pelo auxílio em todas as etapas da pesquisa, pela confiança, pelas dificuldades que enfrentamos juntas e pela força recebida todos os dias. Com certeza nossa amizade foi essencial para conclusão desta fase.

As minhas amigas da república, Jaqueline N., Jaqueline G. e Jéssica, que me receberam de braços abertos e fizeram com que eu me sentisse em família mesmo estando tão longe de casa. Grata por essa amizade que levo para a vida.

Aos meus amigos Júlia, Leonardo, Juliana, Dinarte, Thayná e Maicon que mesmo estando longe sempre estiveram presentes tornando meus dias mais leves.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para que este trabalho se concretizasse, agradeço.

SUMÁRIO

Lista de tabelas.....	10
Lista de figuras.....	11
Atividade de um produto à base de azadiractina e do isolados de <i>Beauveria bassiana</i>, visando ao controle do ácaro-vermelho, <i>Oligonychus yothersi</i>.....	13
Resumo.....	13
Abstract.....	14
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
1.1 Erva-mate.....	15
1.1.1 Biologia da espécie, manejo e cultivo.....	15
1.1.2 Importância econômica.....	16
1.1.3 Suscetibilidade a pragas.....	16
1.2. Ácaro vermelho da erva-mate, <i>Oligonychus yothersi</i>	17
1.2.1. Bioecologia e importância.....	17
1.2.2. Controle do ácaro vermelho da erva-mate.....	18
1.3. Controle biológico.....	19
1.3.1 Fungos acaropatomopatogênicos.....	20
1.3.2. O fungo <i>Beauveria bassiana</i>	22
1.3.3. Bioacaricidas a base de Azadiractina.....	23
1.4. REFERÊNCIAS.....	25
2. Atividade de um produto a base de azadiractina sobre <i>Oligonychus yothersi</i> (MCGREGOR) (ACARI: TETRANYCHIDAE) em plantas de erva-mate.....	33
Resumo.....	33
Abstract.....	34
2.1 INTRODUÇÃO.....	35
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
2.2.1 Manutenção das mudas de erva-mate.....	37
2.2.2 Criação estoque dos ácaros.....	38
2.2.3 Bioensaios.....	39

2.2.3.1 Atividade sobre fertilidade e mortalidade de adultos.....	39
2.2.3.2 Efeitos sobre a biologia.....	41
2.2.4 Análise de dados.....	42
2.3 RESULTADOS.....	43
2.3.1 Atividade sobre fertilidade e mortalidade de adultos.....	43
2.3.2 Efeitos sobre a biologia.....	49
2.3.3 Discussão.....	50
2.4 Conclusão.....	54
2.5 REFERÊNCIAS.....	54
3. Seleção de isolados de <i>Beauveria spp.</i> visando ao controle biológico de <i>Oligonychus yothersi</i> (McGREGOR, 1914) (Prostigmata: Tetranychidae) na erva-mate.....	59
Resumo.....	59
Abstract.....	60
3.1 INTRODUÇÃO.....	61
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.2.1 Mudanças de erva-mate.....	63
3.2.2 Criação estoque de <i>O. yothersi</i>	63
3.2.3 Seleção dos isolados de fungos.....	64
3.2.3.1 Obtenção e manutenção dos isolados fúngicos.....	64
3.2.3.2 Seleção dos isolados de fungos entomopatogênicos.....	66
3.2.4 Comparação dos isolados selecionados.....	69
3.2.4.1 Crescimento vegetativo de <i>Beauveria spp.</i>	69
3.2.4.2 Produção de conídios de <i>Beauveria spp.</i> por colônia.....	69
3.2.4.3 Produção de conídios de <i>B. bassiana</i> por fermentação sólida em arroz parabolizado.....	71
3.2.5 Análise de dados.....	72
3.2.5.1 Seleção de isolados de <i>Beauveria spp.</i> e comparação dos isolados selecionados.....	72
3.3 RESULTADOS.....	73
3.3.1 Seleção dos isolados de fungo <i>Beauveria spp.</i>	73
3.3.2 Comparação dos isolados selecionados.....	74

3.3.3 Discussão.....	75
3.4 Conclusão.....	79
3.5. REFERÊNCIAS.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número médio de ovos obtidos de fêmeas adultas de <i>Oligonychus yothersi</i> em folhas de erva-mate após irrigações semanais de Azamax® (azadiractina A/B 12g/L) nas concentrações de 2,5, 4,0 e 5,5ml/L em laboratório (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).....	44
Tabela 2. Fertilidade de ovos de fêmeas adultas de <i>Oligonychus yothersi</i> em folhas de erva-mate após irrigações semanais de Azamax® (Azadiractina A/B 12g/L) nas concentrações de 2,5, 4,0 e 5,5ml/L em laboratório (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotoperíodo).....	46
Tabela 3. Mortalidade de fêmeas adultas de <i>Oligonychus yothersi</i> em folhas de erva-mate após irrigações semanais de Azamax® (Azadiractina A/B 12g/L) nas concentrações de 2,5, 4,0 e 5,5ml/L em laboratório (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).....	48
Tabela 4. Duração média (em dias ± EP) e viabilidade (%) dos estádios imaturos de <i>Oligonychus yothersi</i> alimentados em folhas de plantas de erva-mate tratadas com 2,5 ml/L de Azamax® via irrigação sistêmica (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).....	49
Tabela 5. Fecundidade (número total de ovos/fêmea ± EP) e duração em dias dos períodos de pré oviposição, oviposição e longevidade de <i>Oligonychus yothersi</i> mantidas em folhas de erva-mate de plantas tratadas com 2,5 ml/L de Azamax® e água destilada (controle) via irrigação sistêmica (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).....	50
Tabela 6. Isolados de <i>Beauveria spp.</i> utilizados na seleção, respectivos hospedeiros e local de origem.....	64
Tabela 7. Parâmetros biológicos (média ± EP) de <i>Beauveria spp.</i> (área da colônia (cm ²), produção de conídios/colônia (10 ⁸), produtividade de conídio/g de arroz (10 ⁹), rendimento de conídio (g)/kg de arroz, produção de conídio do pó peneirado) dos isolados UNIOESTE 53, UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97.....	75

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mudas de erva-mate em recipientes plásticos com substrato (A); ambiente protegido com as mudas padronizadas para os bioensaios (B).....37
- Figura 2.** Erval onde foram realizadas as coletas de folhas de erva-mate (A); coleta de folhas de erva-mate contendo *O. yothersi* (B).....38
- Figura 3.** Triagem de material de campo para estabelecimento da criação de *O. yothersi* (A); Gerbox para manutenção da criação estoque de *O. yothersi* (B).....39
- Figura 4.** Arenas do experimento de atividade sobre fertilidade e mortalidade de adultos de *Oligonychus yothersi* (A).....40
- Figura 5.** Arenas utilizadas no bioensaio de atividade no desenvolvimento, sobrevivência e fecundidade de *Oligonychus yothersi* (A) (B), em câmara B.O.D. para manutenção das bandejas com as arenas durante o período de experimento (C).....41
- Figura 6.** Fases do desenvolvimento ovo-adulto de *Oligonychus yothersi*, Ovos (A), Larva (B), Crisalida (C), Protoninfa e Deutoninfa (D), Adultos (macho e fêmea) (E), Fêmea adulta (F).....42
- Figura 7.** Frasco de vidro contendo meio de cultura ME (A), placas de Petri com ME durante o processo de inoculação dos isolados de *Beauveria spp.* (B), placas de Petri com isolados de fungos produzidos, prontos para raspagem e posterior armazenamento até o momento da utilização nos bioensaios.....66
- Figura 8.** Frascos de vidro com suspensões de conídios dos isolados de *Beauveria spp.* (A), arenas utilizadas para as pulverizações dos isolados fúngicos em fêmeas adultas de *O. yothersi* (B), pulverização em Torre de Potter dos isolados nas arenas com os ácaros (C).....67
- Figura 9.** Placa de Petri com fêmea de *O. yothersi* durante processo de confirmação (A), ácaro com morte confirmada por isolado de *Beauveria spp.* (B).....68
- Figura 10.** Medições perpendiculares em colônias de *Beauveria spp.* para obtenção do diâmetro médio e o cálculo das áreas (A).....69

Figura 11. Colônia de *Beauveria spp.* (A), recorte da colônia em seus limites de crescimento com espátula previamente flambada e refrigerada (B), colônia recortada para posterior contagem de conídios (C), tubos de vidro estéril com a solução de colônias e água destilada com Tween[®] 80 (0,01%) (D). Câmara de Neubauer (E), campo de visão da câmara de Neubauer em microscópio e esquema de contagem (F).....71

ATIVIDADE DE UM PRODUTO À BASE DE AZADIRACTINA E DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* VISANDO AO CONTROLE DO ÁCARO-VERMELHO, *Oligonychus yothersi*

RESUMO A erva-mate *Ilex paraguariensis* St Hil. é uma cultura importante para a região sul do Brasil e sofre com ataques de *Oligonychus yothersi* (McGregor, 1914) que causa perdas econômicas. Este ácaro ataca a região adaxial das folhas de erva-mate causando bronzeamento e queda foliar. O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *Beauveria spp.* para o controle de *O. yothersi* em folhas de erva-mate e avaliar a atividade de Azamax[®], sobre *O. yothersi* por irrigação sistêmica de plantas de erva-mate. A mortalidade total de *O. yothersi* variou de 15 a 92% entre os isolados avaliados e a mortalidade confirmada entre 1 a 80%. Os isolados que se destacaram quanto a mortalidade total e confirmada foram UNIOESTE 53, 87 e 97, com valores superiores a 70%. Nas avaliações dos parâmetros biológicos os isolados UNIOESTE 87 e 97 apresentaram melhores resultados que UNIOESTE 53. Com relação às avaliações de Azamax[®], o produto afetou a viabilidade de ovo-adulto de *O. yothersi* em 50% no grupo tratado e 63% no controle. Houve diferença significativa na fecundidade média, sendo os maiores valores no controle, 34,0 dias e menores no tratamento, 19,4 dias. A maior mortalidade ocorreu na terceira semana de aplicação da menor dosagem, com 62,7% de mortalidade. Não houve diferença significativa entre as dosagens testadas e tampouco entre a quantidade de irrigações realizadas. Porém, as diferentes concentrações do produto demonstraram ação acaricida sobre as populações de *O. yothersi*, afetando sua sobrevivência e a fecundidade. Estes resultados indicam que Azamax[®] tem atividade acaricida e potencial como alternativa para controle de populações de *O. yothersi* quando utilizado na irrigação sistêmica de plantas de erva-mate, assim como os isolados fungicos UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97 são os mais indicados para estudos posteriores visando o controle do ácaro vermelho da erva-mate.

Palavras-chave: controle microbiano, irrigação sistêmica, *Ilex paraguariensis*.

ACTIVITY OF AN AZADIRACHTIN-BASED PRODUCT AND OF FUNGUS *Beauveria bassiana* TO RED MITE BIOLOGICAL CONTROL, *Oligonychus yothersi*

ABSTRACT Yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. -Hil.) is a culture of great economic importance in Southern Brasil and suffers attacks by phytophagous mite *Oligonychus yothersi* (McGregor, 1914), causing economic damages. The mite attacks the adaxial surface of yerba mate leaves and causes browning and falling of the leaves. The aim of this work was to select the isolates of *Beauveria spp.* to control *O. yothersi* in yerba mate leaves and evaluate the Azamax[®] activity on *O. yothersi* by systemic irrigation of yerba mate plants. Total mortality of *O. yothersi* varied between 15 and 92% among the evaluated isolates and confirmed mortality varied between 1 to 80%. The isolates that stood out in total mortality were UNIOESTE 53, 87 and 97, with total mortality above 70%. In biological parameters evaluation, the isolates UNIOESTE 87 and 97 showed higher results than UNIOESTE 53. Related to evaluations of Azamax[®], it affected the viability of egg-adult of *O. yothersi* in 50% in treated group and 63.3% in control group. The average fecundity was significant difference, obtaining the larger values in control group (34.0 days) and the smaller values in treatment group (19.4 days). The highest mortality occurred in the third week of application of the lowest doses, with 62.7% of mortality. There was no significant difference between the tested dosages and the amount of irrigation performed. However, different Azamax[®] concentrations showed acaricidal action on *O. yothersi* populations, affecting survival and fecundity. These results indicate that Azamax[®] has acaricidal activity and potential as an alternative to control of *O. yothersi* populations when used with systemic irrigation of yerba mate plants, and the fungal isolates UNIOESTE 87 and UNIOESTE 97 are the most indicated for further studies aiming the control of yerba mate red mite.

Keywords: microbial control, systemic irrigation, *Ilex paraguariensis*.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 ERVA-MATE

1.1.1 Biologia da espécie, manejo e cultivo

A erva-mate *Ilex paraguariensis* St Hil. (Aquifoliales: Aquifoliaceae) é uma planta que pode atingir de 10 a 15 m de altura (FERLA et al. 2018). É uma espécie com bom desenvolvimento em áreas sombreadas, sendo que na fase adulta torna-se mais tolerante à luz (FERLA et al. 2018). Sua distribuição natural é de cerca de 540.000 km², tendo ocorrência em regiões do Brasil, Argentina e Paraguai. Sendo que, deste total, aproximadamente 450.000km² estão localizados no Brasil, representando 5% do território nacional (DE OLIVEIRA & ROTTA, 1985). No Brasil, a planta ocorre em matas subtropicais e em formações de Floresta Ombrófila mista, em associações evoluídas com *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Pinales: Araucareaceae), não sendo encontrada em campos naturais (FERLA et al. 2018).

Devido à devastação das matas de araucária, as áreas de exploração da erva-mate se reduziram e como consequência diminuiu a oferta de matéria-prima para a indústria ervateira. Para atender a crescente demanda do mercado, a planta passou a ser cultivada como monocultura, proporcionando um ambiente favorável para o aumento populacional de fitófagos causadores de danos econômicos, além de alterar a morfofisiologia das plantas (PAGLIOSA et al. 1994; SOARES & IEDE, 1997; PENTEADO 2000; GOUVEA et al. 2006).

Sabe-se que os ervais nativos apresentam menor incidência de pragas que os adensados, porém produzem menos se comparados ao sistema de monocultura (BORGES et al. 2003). Apesar de o monocultivo alterar o

funcionamento normal do ambiente e causar impactos, a cultura cada vez mais está sendo a alternativa encontrada pelos agricultores que buscam maior produção em um espaço limitado.

1.1.2 Importância econômica

A cultura da erva-mate é uma atividade de grande importância sócio-econômica e ambiental para a região sul do Brasil, principalmente para os estados do Rio Grande do Sul e do Paraná, que são os maiores produtores do país (IBGE, 2018b; FERLA et al. 2018). Juntamente com o Rio Grande do Sul e Paraná, os estados de Santa Catarina e Mato Grosso do Sul se destacam na produção de erva-mate no Brasil (IBGE, 2018b; FERLA et al. 2018). No ano de 2015, o Brasil produziu 941.700 toneladas, sendo 64% deste total de erva-mate cultivada e 36% nativa (IBGE, 2018a). Os países que fazem parte do Cone Sul como o Brasil, a Argentina e o Paraguai destacam-se na produção mundial de erva-mate, sendo a Argentina o maior produtor, seguido pelo Brasil e Paraguai (IBGE 2018a; FERLA et al. 2018) A demanda de mercado do produto vem aumentando, pois além das folhas serem tradicionalmente utilizadas em bebidas como o chimarrão, a planta é ainda matéria prima para refrigerantes, alimentos, cosméticos e para estudos farmacológicos, demonstrando que seu cultivo é uma excelente escolha para os agricultores (OLIVEIRA & WAQUIL, 2015).

1.1.3 Suscetibilidade a pragas

Devido às alterações na forma de cultivo, os ervais vêm sofrendo com perda de biodiversidade e, conseqüentemente com o aumento de populações de organismos causadores de danos econômicos nas plantações, e que podem atingir o nível de dano econômico, sendo considerados pragas quando não controlados (PENTEADO et al. 2000; FERLA et al. 2018).

Dentre os organismos que atacam e danificam a erva-mate, estão os ácaros, que devido a sua alimentação causam perdas na produção em ervais,

decorrente da queda precoce de folhas e secamento de brotações. Destaca-se nesse contexto, *Oligonychus yothersi* (McGregor, 1914) (Prostigmata: Tetranychidae), popularmente conhecido como ácaro-roxo ou ácaro-vermelho-da-erva-mate, considerado um dos principais ácaros encontrados na cultura. A espécie é reportada por diversos autores com registros de aumentos de densidade populacional e como causadora de consideráveis perdas de produtividade em determinados períodos e locais, tanto no Brasil como na Argentina (COLL & SAINI, 1992; ALVES et al. 2004; MARCHETTI & SIEBERT, 2005; GOUVEA et al. 2006; FERLA et al. 2018).

1.2 Ácaro-vermelho-da-erva-mate, *Oligonychus yothersi*

Ácaros Tetranychidae estão associados a inúmeras espécies vegetais, alimentando-se do parênquima e extraindo o conteúdo celular, provocando redução da capacidade fotossintética da planta (BOLLAND et al. 1998; MORAES & FLECHTMANN, 2008). *Oligonychus yothersi* é uma espécie que tem ocorrência registrada desde os Estados Unidos até a Argentina, sendo encontrado em diversas culturas como em plantas de abacate, café, manga, eucalipto, plantas ornamentais e também na erva-mate (MORAES & FLECHTMANN, 2008). Usualmente formam aglomerações na região adaxial das folhas, e devido à alimentação, causam bronzeamento e, quando em altas populações, podem provocar a queda foliar (FLECHTMANN, 1983; MORAES & FLECHTMANN, 2008).

1.2.1 Bioecologia e importância

Quando associado à erva-mate, o ácaro-vermelho *O. yothersi* é encontrado na face adaxial de folhas maduras (MARCHETTI & SIEBERT, 2005; GOUVEA et al. 2006; FERLA et al. 2018). É relatado ocorrendo no Brasil e na Argentina, e os danos causados caracterizam-se por extensas manchas escuras nas folhas da planta, e em grandes populações pode ocorrer à desfolha e perda na produtividade (GOUVEA et al. 2006; ALVES et

al. 2004; MORAES & FLECHTMANN, 2008).

A incidência do ácaro varia de acordo com o local onde está inserido e a estação do ano (GOUVEA et al. 2006; MORAES & FLECHTMANN, 2008). Maiores níveis populacionais de *O. yothersi* são observados entre os meses de agosto e setembro devido às condições climáticas favoráveis da época, quando a temperatura é mais amena entre 20 e 25 °C, e a precipitação é baixa, sendo o ácaro favorecido pelos ventos para sua dispersão (GOUVEA et al. 2006).

Com relação à biologia da espécie, *O. yothersi* possui a duração das suas fases imaturas de aproximadamente 11 dias, podendo ocorrer de cinco a seis gerações anuais (ALVES et al. 2004; MORAES & FLECHTMANN, 2008). Ainda, fêmeas não acasaladas são capazes de ovipositar e gerar descendentes machos através de partenogênese (ALVES et al. 2004).

1.2.2. Controle do ácaro-vermelho-da-erva-mate

No Brasil, não existem produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA para utilização na erva-mate visando ao controle do ácaro-vermelho (AGROFIT, 2020). Porém, sabe-se que agricultores utilizam acaricidas químicos de forma irregular (BORGES et al. 2003). Na Argentina é regulamentado o controle químico desde a década de 1970 (OHASHI et al. 2014). Dessa forma, não se conhece a eficiência de controle químico e, principalmente, os períodos de carência e níveis residuais desses produtos.

Diante da problemática e o risco na utilização de inseticidas químicos, há a necessidade de explorar métodos alternativos. A tecnologia que é empregada na cultura para o controle dos organismos praga é de grande importância, já que as folhas da erva-mate geralmente são consumidas *in natura* ou ainda constituem a matéria-prima para obtenção de fármacos, alimentos, cosméticos, bebidas, entre outros produtos (FERLA et al. 2018). Assim, são necessárias medidas efetivas e sustentáveis, que incluam a prevenção e controle da infestação. Ainda, a má utilização de agrotóxicos

provoca perda de qualidade ambiental, afeta a saúde humana, causa desequilíbrio no ecossistema e ainda gera altos custos de aplicação para o produtor (GALLO et al. 2002).

Levando em consideração o fato de que a legislação brasileira desde o ano de 2009 permite o registro de novos inseticidas para uso na agricultura orgânica, justifica-se a realização de estudos visando à possibilidade de controle de pragas agrícolas com produtos mais seguros (BRASIL, 2020).

1.3 Controle biológico

Medidas que visam prevenir ou reduzir perdas podem ser tomadas ajustando as práticas de manejo da cultura e implantando diferentes métodos de controle dos organismos praga. Desta forma, o controle biológico é uma alternativa que pode manter as populações dos agentes patológicos em níveis toleráveis para cada sistema produtivo (PENTEADO et al. 2000).

Estudos que visam ao desenvolvimento de tecnologias para o controle natural de organismos praga são importantes para a manutenção da qualidade ambiental, da saúde humana e do equilíbrio da biodiversidade como um todo (PARRA, 2002). O controle biológico de espécies que atingem o nível de dano econômico na agricultura possibilita que a produção seja realizada de maneira orgânica, oferecendo um produto de maior qualidade ao consumidor final. Padronizando a forma de produção é possível que a utilização das plantas seja ampliada trazendo maiores rendimentos para a região onde se insere (PENTEADO et al. 2000; PARRA, 2002; FERLA et al. 2018).

Especificamente para a erva-mate, essa alternativa de controle contribui para a solução de alguns dos principais problemas que afetam a cadeia produtiva da cultura, garantindo a qualidade e segurança no produto a ser comercializado pelas indústrias. Para que haja uma ampliação da utilização da erva-mate é essencial que haja reorganização do manejo e garantia de maior qualidade do produto (FERLA et al. 2018).

O controle biológico de adultos e formas imaturas de *O. yothersi* se dá

naturalmente por meio de insetos e ácaros predadores e microrganismos acaropatogênicos (ALVES & DE OLIVEIRA, 2009; FERLA et al. 2018). Estudos objetivando ao controle biológico de *O. yothersi* vem sendo realizados em diferentes culturas com a utilização de diferentes organismos e métodos alternativos (FRANK et al. 1992; OLIVEIRA et al. 2002; 2004; ALVES & DE OLIVEIRA, 2009; BIDDINGER et al. 2009; RIOJA & VARGAS, 2009; RIOJA et al. 2015; ALVES et al. 2016).

1.3.1 Fungos Acaropatogênicos

Uma alternativa para controlar populações de ácaros praga é a utilização de fungos entomopatogênicos (ALVES, 1998). Essa tecnologia vem ganhando maior representatividade e atenção nos últimos anos tanto na América Latina quanto em diversas outras partes do mundo (ALVES et al. 2002). Dentro do grupo dos fungos entomopatogênicos são encontrados os pertencentes ao subgrupo chamado de fungos acaropatogênicos que são os fungos que possuem espécies de ácaros como hospedeiros alvo (CHANDLER et al. 2000). Estes fungos podem ser estudados objetivando o controle biológico de espécies de ácaros em diversas culturas, ou ainda para o Manejo Integrado de Pragas em associação com ácaros predadores do fitófago causador de danos agrícolas (CHANDLER et al. 2000).

Estes fungos são microrganismos que se caracterizam por parasitarem artrópodes em diversas culturas e são importantes agentes de controle biológico em todo o mundo (VEGA et al. 2012; SCHAPOVALOFF et al. 2015).

O mecanismo de infecção dos fungos entomopatogênicos em geral tem ocorrência via tegumento iniciando com a adesão dos conídios a cutícula dos hospedeiros, germinando em um período entre 12 e 18h, dependendo da presença de oxigênio, nutrientes e variações no pH e na temperatura. A penetração na cutícula ocorre principalmente pela ação de enzimas (STARNES & JOKLIK, 1983; FERRON et al. 1991). A penetração no hospedeiro é facilitada pela produção de proteases, quitinases e lipases, ocorrendo diretamente na cutícula. Após, o fungo se espalha por todo corpo,

produzindo altas quantidades de toxinas, causando a paralisia e a morte do organismo (FLEXNER et al. 1986; GILBERT & GILL, 2010). Após o hospedeiro morto, o fungo coloniza o corpo todo e sob condições ambientais favoráveis, hifas emergem para fora do cadáver, esporulando na superfície, podendo infectar outros hospedeiros que também são suscetíveis através da disseminação no ambiente pela água, pelos ventos e outros invertebrados (ALVES, 1998; GILBERT & GILL, 2010). Existem diversas variações e até mesmo exceções para esse ciclo de vida dos fungos entomopatogênicos. No entanto, o ambiente e o hospedeiro são cruciais para a sobrevivência e a reprodução do fungo (GILBERT & GILL, 2010).

A suscetibilidade de um hospedeiro a um patógeno fúngico é influenciada por muitos fatores, incluindo as propriedades do hospedeiro e do patógeno, além de fatores ambientais (GILBERT & GILL, 2010).

Diversas espécies de fungos possuem potencial para controlar organismos-praga, ainda, há grande quantidade de isolados fúngicos da mesma espécie encontrados nos mais variados hospedeiros, ambientes e climas, influenciando na relação do hospedeiro com o patógeno (MARTINS et al. 2016).

Além disso, é importante ressaltar que os fungos apresentam considerável variabilidade genética que influencia na capacidade de produzir toxinas e enzimas fundamentais para o fungo se aderir, colonizar e matar o hospedeiro, afetando diretamente a atividade patogênica (ALVES, 1998; CHANDLER et al. 2000; XIAO et al. 2012). Desta forma, um determinado isolado fúngico pode ser letal para uma ou mais espécies e inócuo para outras. Para tanto, são necessários bioensaios com condições controladas para que seja possível determinar a patogenicidade (capacidade de causar uma doença ao hospedeiro) e a virulência (gravidade da doença) do isolado fúngico (ROHRLICH et al. 2018).

Para que um isolado seja considerado eficiente no controle, é necessário que além da atividade patogênica e virulência, sua capacidade de produção de conídios seja avaliada, pois um fungo com capacidade limitada é inviável para multiplicação em grande escala e, conseqüentemente não

consegue suprir as necessidades exigidas para sua utilização em programas de controle biológico (MANIANIA et al. 2008).

Os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.Criv.) Vuill. 1912 (Ascomycetes: Clavicipitaceae), *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), *Hirsutella thompsonii* (Fisher), *Paecilomyces* sp., *Triplosporium* sp. (Thaxter) Batko e *Neozygites* sp. (Zygomycota: Entomophthorales) podem ser encontrados no mundo inteiro, em associação com populações de ácaros fitófagos, contribuindo de forma natural para controle destes organismos em diferentes culturas de importância agrícola (ALVES, 1998; CHANDLER et al. 2000; FERLA et al. 2018). Especificamente em relação às pragas da erva-mate, fungos dos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* (Persoon) são comumente utilizados em estudos com o objetivo de controlá-las, com destaque para a espécie *Beauveria bassiana* (DALLA SANTA et al. 2009; BORGES et al. 2011; ALVES et al. 2013; FANTI & ALVES, 2013; SCHAPOVALOFF et al. 2014; THOMAZONI et al. 2014).

1.3.2 O fungo *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana é reconhecido como uma espécie generalista com uma ampla gama de hospedeiros, sendo mais de 700 espécies de artrópodes (ROHRLICH et al. 2018). Este fungo é comumente encontrado em insetos mortos em ambiente natural, podendo ocorrer de forma enzoótica ou epizootica em diferentes espécies de artrópodes ou ainda sobre amostras de solo (SAMSINAKOVA, 1966; ALVES, 1998; PIRES, 2002). Além disso, *B. bassiana* é amplamente estudado como agente de controle biológico, possuindo ocorrência em muitos países, sendo mais frequentemente encontrado sobre insetos e amostras de solo (SAMSINAKOVA, 1966; ALVES, 1998; PIRES, 2002).

Dentre os hospedeiros desta espécie fúngica além dos ácaros estão lepidópteros, coleópteros, hemípteros, dípteros, himenópteros e ortópteros, sendo que, a espécie já foi reportada ocorrendo em mais de 200 espécies de

insetos agrupados em nove ordens (IGNOFFO, 2009; ALVES, 1998). Seus conídios possuem a capacidade de penetrar em qualquer parte da cutícula do inseto, ou até mesmo através do aparelho respiratório e digestório (IGNOFFO, 2009; ALVES, 1998).

Segundo Leite et al. (2011), *B. bassiana* é um dos fungos entomopatogênicos mais estudados no mundo por possuir capacidade de atuar em uma maior gama de hospedeiros e por poder ser facilmente cultivados em meio de cultura.

Especificamente contra os ácaros que infestam a erva-mate, Martins et al. (2016), testaram em laboratório isolados de *Beauveria spp.*, contra o ácaro-branco, *Polyphagotarsonemus latus*, e obtiveram taxas de mortalidade total e confirmada de 70% e 57,7%, respectivamente.

Em relação ao ácaro *O. yothersi*, estudos prévios, realizados por Oliveira et al. (2002) comprovaram a sua suscetibilidade a isolados de *B. bassiana*. Posteriormente, Oliveira et al. (2004) avaliaram 82 isolados de fungos, sendo 64 de *B. bassiana*, 10 de *M. anisopliae* e 8 de *Isaria fumosorosea* (*Paecilomyces fumosoroseus*) visando ao controle de *O. yothersi*. Segundo os autores, nove isolados de *B. bassiana* causaram mortalidade superior a 70% do ácaro.

Frente à variação na atividade de isolados aos hospedeiros, a busca por isolados mais ativos e que sejam passíveis de produção em grande escala é necessária e justificada a busca por isolados que sejam mais adequados ao uso. Assim, estudos mais detalhados devem ser realizados visando a selecionar maior número de isolados de fungos acaropatogênicos, visando ao desenvolvimento de tecnologias para controle do ácaro-vermelho em erva-mate.

1.3.3. Bioacaricidas a base de Azadiractina

A exploração de compostos isolados do metabolismo secundário de plantas tem sido estudada como uma alternativa com grande potencial (WEATHERSBEE & MCKENZIE, 2005).

Produtos derivados da planta popularmente conhecida como nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (Sapindales: Meliaceae) são utilizados para o controle diversos organismos reportados como pragas na agricultura (WEATHERSBEE & MCKENZIE, 2005). O principal ingrediente ativo com potencial acaricida e encontrado de forma abundante na planta é o limonoide azadiractina. A azadiractina tem diferentes modos de ação, sendo descrita por atuar como repelente, deterrente alimentar, inibidor de crescimento, interferir na reprodução e por causar anomalias anatômicas em artrópodes (SCHMUTTERER, 1990; NISBET, 2000; WEATHERSBEE & MCKENZIE, 2005; SILVA et al. 2009; SCHLESENER et al. 2013; ABEDI et al. 2014; SANCHEZ-RAMOS et al. 2014). A forma mais comum da utilização do nim é o óleo, abundante nos frutos e sementes, porém, no Brasil, há também o produto Azamax[®] que é um concentrado emulsionável contendo 1,2% de azadiractina A e B (12g/L) em óleo vegetal (UPL, 2020).

Diversos estudos relatam a efetividade da utilização de derivados da *A. indica* no controle de insetos e ácaros praga, em diferentes formas de aplicação, diversas culturas e em cultivos orgânicos e convencionais devido a sua elevada toxicidade sobre artrópodes e seu poder de degradação ambiental (SCHMUTTERER, 1990; NISBET, 2000; WEATHERSBEE & MCKENZIE, 2005; SILVA et al. 2009; BERNARDI et al. 2013; SCHLESENER et al. 2013; ABEDI et al. 2014).

Com relação ao ácaro-vermelho da erva-mate, *O. yothersi*, comprovou-se em campo, a ação de um produto à base de azadiractina (Azamax[®]) na concentração de 2,5 ml/L pulverizado sobre folhas de erva-mate, causando aproximadamente 90% de mortalidade dos ácaros, repelência e ação ovicida em laboratório. E ainda a redução de 59,6% de ácaros em campo, pulverizando-se o produto nas folhas (ALVES et al. 2016).

Além da pulverização, também vem sendo estudada a irrigação como forma de aplicação de azadiractina visando ao controle de insetos e ácaros praga (HUMMEL & KLEEBERG, 2010), pois é sabido que a azadiractina apresenta circulação sistêmica nas plantas (THOEMING et al. 2006). Nesse sentido, Sundaram et al. (1995) observaram a redução na população do ácaro

Tetranychus urticae (Koch) em plantas de álamo tratadas com azadiractina via irrigação. Azamax[®] também foi avaliado via irrigação sistêmica contra ácaros-praga do coqueiro, obtendo resultados satisfatórios quanto à mortalidade e ação sobre o desenvolvimento destes fitófagos (SUJATHA et al. 2005; BAGDE et al. 2014; HEGADE et al. 2017).

Atualmente, são encontradas diferentes formulações comerciais de derivados da planta da *A. indica*, podendo ser à base de óleo de nim ou da azadiractina disponíveis no mercado mundial. No Brasil, existem cinco formulações registradas de produtos comercializados a base de azadiractina, dentre elas o produto Azamax[®] (AGROFIT, 2020). O produto comercial foi introduzido no Brasil no ano de 2009 e consiste em um concentrado emulsionável contendo 1,2% de do tetranortriterpenóide azadiractina A e B (12g/L) em óleo vegetal (UPL, 2020). O produto é recomendado para o controle de insetos e ácaros pragas em diferentes culturas, possuindo certificação para utilização em diversos tipos de cultivos tanto em sistema convencionais como orgânicos (AGROFIT, 2020; IBD, 2020).

1.4. REFERÊNCIAS

ABEDI, Z.; SABER, M.; GHAREKHANI, G.; MEHRVAR, A.; KAMITA, S. G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 638-645, 2014.

AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. 2020. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 20 fev. 2020.

ALVES, L.F.A.; SPONGOSKI, S.; VIEIRA, F.D.S.; MORAES, G.D. Biologia e danos de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) em *Ilex paraguariensis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 2, p. 211-214, 2004.

ALVES, L.F.A.; DE OLIVEIRA, D.G.P. *Parastethorus histrio* (Chazeau) (Coleoptera: Coccinellidae) predator of the red mite *Oligonychus yothersi*

(McGregor) (Acari: Tetranychidae), on Paraguay tea (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) in Brazil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 2, p. 229-230, 2009.

ALVES, L.F.A.; FORMENTINI, M.A.; FANTI, A.L.P.; SCHAPOVALOFF, M.E.; BARZOTTO, I.L.M. Susceptibility of *Gyropsylla spegazziniana* (Lizer & Trelles) (Hemiptera: Psyllidae) to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 363-366, 2013.

ALVES, L.F.A.; MARTINS, C.C.; MAMPRIM, A.P.; BOTTON, M. Azadirachtin on *Oligonychus yothersi* in yerba mate *Ilex paraguariensis*. **Ciência Rural**, v. 46, p. 1777-1782, 2016.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. **Controle microbiano de insetos**, v. 2, p. 289-381, 1998.

ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M.; LOPES, R.B.; TAMAI, M.A. Use of entomopathogenic fungi in Latin America. In **Advances in microbial control of insect pests**. Springer, Boston, MA. pp. 193-211. 2002.

BAGDE, A. S.; PATIL, P.D.; PASHTE, V.V. Studies on efficacy of neem bio-pesticides against eriophyid mite (*Aceria guerreronis* Keifer.). **The Bioscan**, v. 9, p. 341-346, 2014.

BERNARDI, D.; BOTTON, M.; DA CUNHA, U.S.; BERNARDI, O.; MALAUSA, T.; GARCIA, M.S.; NAVA, D.E. Effects of azadirachtin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its compatibility with predatory mites (Acari: Phytoseiidae) on strawberry. **Pest Management Science**, v. 69, p. 75-80, 2013.

BIDDINGER, D.J.; WEBER, D.C.; HULL, L.A. Coccinellidae as predators of mites: stethorini in biological control. **Biological Control** v. 51, p. 268–283. 2009.

BOLLAND, H.R.; GUTIERREZ, J.; FLECHTMANN, C.H. **World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae)**. Brill, 1998.

BORGES, L.R.; LÁZZARI, S.M.N.; LÁZZARI, F.A. Comparação dos sistemas de cultivo nativo e adensado de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil., quanto à ocorrência e flutuação populacional de insetos. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 4, p. 563-568, 2003.

BORGES, L.R.; LAZZARI, S.M.N.; BORGES-ARRIAGADA, L.R.; IEDE, E.T.

Eficácia de *Beauveria bassiana* para o controle de *Hedypathes betulinus* em erva-mate, *Ilex paraguariensis*. **Floresta**, v. 41, n. 2, 2011.

BRASIL. **Decreto nº 6.913**, de 23 de julho de 2009. Acresce dispositivos ao Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6913.htm> Acesso em: 16 fev. 2020

CHANDLER, D.; DAVIDSON, G.; PELL, J.K.; BALL, B.V.; SHAW, K.; SUNDERLAND, K.D. Fungal biocontrol of Acari. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10. n. 4, p. 357-384. 2000.

COLL, O.R.; SAINI, E.D. Insectos y acaros perjudiciales al cultivo de la yerba mate en la República Argentina. Montecarlo: INTA. 48p. 1992.

DALLA SANTA, H.S.; SOUSA, N.J.; PITNER, E.; DALLA SANTA, O.R.; SOCCOL, C.R. Controle biológico em pragas de *Ilex paraguariensis* (A. St.-Hil.) com fungo *Beauveria* sp. **Floresta**, v. 39, n. 1, 2009.

DE OLIVEIRA, Y.M.M; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10, 1983, Curitiba. Silvicultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*): anais. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, p. 17-36, 1985.

FANTI, A.L.P.; ALVES, L.F.A. Isolados de fungos entomopatogênicos visando ao controle da broca da erva-mate (*Hedypathes betulinus*) Kluger (Coleoptera: Cerambycidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1467-1478, 2013.

FERLA, N.J.; da SILVA, G.L.; JOHANN, L.; A cultura da erva-mate e os ácaros: situação atual e perspectivas. Porto Alegre: Evangraf, v. 1, 2018.

FERRON, P.; FARGUES, J.; RIBA. Fungi as microbial insecticides against pest. In: ARORA, D.K.; AJELLO, I.; MUKERJI, K.G. (Ed.) **Handbook of applied mycology**. New York: Marcel Dekker, v. 2. Humans, animals and insects, p. 665-706. 1991.

FLECHTMANN, C.H.W. Ácaros de importância agrícola. 5a ed. São Paulo, Brazil. p. 396. 1983.

FLEXNER, J.; LIGHTHERT, B.; CROFT, B.A. The effect of microbial

pesticides to non-target, beneficial arthropods. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 16, n. 3, p. 203-254, 1986.

FRANK, J.H.; BENNETT, F.D.; CROMROY, H.L. Distribution and prey records for *Oligota Minuta* (Coleoptera: Staphylinidae), a predator of mites. **The Florida Entomologist**. v. 75, p. 376–380. 1992.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.D. **Entomologia agrícola** (No. 632.7 E61e). Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. 2002.

GILBERT, L. I.; GILL, S. S. (Eds.). **Insect control: biological and synthetic agents**. Academic Press. 2010.

GOUVEA, A.D.; BOARETTO, L.C.; ZANELLA, C.F.; ALVES, L.F. Populational dynamics of mites (Acari) in the mate-tea tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.: Aquifoliaceae). **Neotropical entomology**, v. 35, n. 1, p. 101-111, 2006.

HEGADE, P.B.; DESAI, V.S.; NARANGALKAR, A.L.; PRABHUDESAI, S.S.; HALDANKAR, P.M. Effect of integrated management on coconut yield and per cent reduction in incidence of eriophyid mite *Acerai guerreronis* (Keifer) (Acarina: Eriophyidae). **Environment and Ecology**, v. 35, p. 2413-2417, 2017.

HUMMEL, E.; KLEEBERG, H. neemazal-t/s-registration situation in eu and other methods of application. **Studii și Cercetări**, v. 19, p. 25-27, 2010.

IBD - INSTITUTO BIODINÂMICO. **Certificações**. Brasil, 2019. Disponível em: <http://ibd.com.br/pt/ClientesResultadoPesquisaInsumos.aspx?ID_CERTIFICADO=0&PRODUTO=Azamax&CLIENTE=&ID_CATEGORIA=123&ID_FINALIDADE=134>. Acesso em: 12 fev. 2020.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Produção de extração Vegetal e Silvicultura. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=289&z=p&o=31>>. Acesso em: 12 jul. 2018a.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agro, 2017. Disponível em <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76291>. Acesso em: 26 ago. 2018b.

IGNOFFO, C.M. Entomopathogens as insecticides. **Environmental Letters**, v.

8, n. 1, p. 23-40, 2009.

LEITE, M.S.P.; IEDE, E.T.; PENTEADO, S.D.R.C; ZALESKI, S.R.M.; CAMARGO, J.M.M.; RIBEIRO, R.D. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Hedypathes betulinus* e avaliação da persistência. *Floresta*, v. 41, n. 3, 2011.

MANIANIA, N.K.; BUGEME, D.M.; WEKESA, V.W.; DELALIBERA, I.; KNAPP, M. Role of entomopathogenic fungi in the control of *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), pests of horticultural crops. In **Diseases of Mites and Ticks**, p. 259-274. Springer, Dordrecht. 2008.

MARCHETTI, M.M.; SIEBERT, J.C. Acarofauna (Acari) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.: AQUIFOLIACEAE) no estado do Rio Grande do Sul. **Biociências**, v. 13, n. 2, p. 133-142, 2005.

MARTINS, C.C.; ALVES, L.F.A.; MAMPRIM, A.P.; SOUZA, L.P.A. Selection and characterization of *Beauveria spp.* isolates to control the broad mite *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 3, p. 629-637, 2016.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de Acarologia**: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto. Holos Editora, p. 288, 2008.

NISBET, A.J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 615-632, 2000.

OHASHI, D.V.; MAYOL, R.M.; ALSINA, M.; SOSA, D.A.; ANTONELLI, L.; LESCANO, C.; LILLIESKOLD, G.; LOZANO, G.; MUNARETTO, L.; MECZARK, R; STATKIEWCS, H. Evaluación de acaricidas en el control del ácaro rojo del té (*Oligonychus yothersi*). 2014.

OLIVEIRA, R.C. de; ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.O.J. Susceptibility of *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) to the fungus *Beauveria bassiana*. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 187-189, 2002.

OLIVEIRA, R.C.; NEVES, P.M.; ALVES, L.F.A. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na cultura de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 347-351, 2004.

OLIVEIRA, R.C.D.; ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.O.J. Suscetibilidade de *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) ao fungo *Beauveria bassiana*. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 187-189. 2002.

OLIVEIRA, S.V.D.; WAQUIL, P.D. Dynamics of production and commercialization of yerba mate in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 750-756, 2015.

PAGLIOSA, M.M.R; SANTOS, H.R.; DIOTATO, M.A. Patogenicidade do fungo *Beauveria bassiana* (BALS) VUILL., em *Hedypathes betulinus* (KLUG, 1825), praga da erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Agrárias**, v.13, p.225-228, 1994.

PARRA, J.R.P. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole Ltda. 2002.

PENTEADO, S.; IEDE, E. T.; LEITE, M. S. P. Pragas da erva-mate: perspectivas de controle. In: **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIAO TECNICA DA ERVA MATE, 3., 2000, Encantado. Anais. Porto Alegre: Comissão dos Organizadores/Universidade do Rio Grande do Sul/Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, p. 27-38, 2000.

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

RIOJA, T.; CEBALLOS, R.; REBOLLEDO, R.; VARGAS, R. Rearing and development of *Oligota pygmaea* and *Parastethorus histrio* (Coleoptera: Staphylinidae, Coccinellidae) feeding on *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) and survival on non-mite foods under laboratory conditions. **International journal of acarology**, v. 41, n. 8, p. 681-687. 2015.

RIOJA, T.; VARGAS, R. Life table parameters and consumption rate of *Cydnodromus picanus* Ragusa, *Amblyseius graminis* Chant, and *Galendromus occidentalis* (Nesbitt) on avocado red mite *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**. v. 69, n. 2, 160-170. 2009.

ROHRLICH, C.; MERLE, I.; HASSANI, I. M.; VERGER, M.; ZUIN, M.; BESSE, S.; ROBÈNE, I.; NIBOUCHE, S.; COSTET, L. Variation in physiological host range in three strains of two species of the entomopathogenic fungus *Beauveria*. **PloS One**, v. 13, n. 7. 2018.

SAMSINAKOVA, A. Growth and sporulation of submersed cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 8, n. 3, p. 395-400, 1966.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; PASCUAL, S.; MARCOTEGUI, A.; FERNÁNDEZ, C. E.; GONZÁLEZ-NÚÑEZ, M. (2014). Laboratory evaluation of alternative control methods against the false tiger, *Monosteira unicostata* (Hemiptera: Tingidae). **Pest Management Science**, v. 70, p. 454-461, 2014.

SCHAPOVALOFF, M. E.; ALVES, L.F.A.; FANTI, A.L.; ALZOGARAY, R.A.; LÓPEZ LASTRA, C.C.; ODE, P. Susceptibility of adults of the cerambycid beetle *Hedypathes betulinus* to the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Purpureocillium lilacinum*. **Journal of insect science**, v. 14, n. 1, 2014.

SCHAPOVALOFF, M.E.; ALVES, L.F.A.; URRUTIA, M.I.; LASTRA, C. C. L. Ocurrencia natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 47, n. 2, p. 138-142, 2015.

SCHLESENER, D.C.H.; DUARTE, A.F., GUERRERO, M.F.C., CUNHA, U.S.D.; NAVA, D.E. Effects of neem on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and the predators *Phytoseiulus macropilis* (Banks) and *Neoseiulus Californicus* (Mcgregor) (Acari: phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 59-66, 2013.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadiractha indica*. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 271-297, 1990.

SILVA, A. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H. Atividade inseticida do nim (*Azadiractha indica* A. Juss). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, p. 7-15, 2009.

SOARES, C.M.S.; IEDE, E.T. Perspectivas para controle da broca-da-erva-mate *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae) In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE CULTURA DA ERVA-MATE, 2., Curitiba, 1997. Anais. Curitiba: EMBRAPA, CNPF, p. 391-400, 1997.

STARNES, M.C.; JOKLIK, W.K. Reovirus protein $\lambda 3$ is a poly (C)-dependent poly (G) polymerase. **Virology**, v. 193, n. 1, p. 356-366. 1993.

SUNDARAM, K.M.S.; CAMPBELL, R.; SLOANE, L.; STUDENS, J. Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Crop Protection**, v. 14, p. 415-421, 1995.

SUJATHA, A.; RAO, N.B.V.C.; RAO, D.V.R. Efficacy of eco-neem plus against coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* (Keif.). **Journal of Applied Zoological Researches**, v. 16, p. 126-127, 2005.

THOMAZONI, D.; FORMENTINI, M.A.; ALVES, L.F.A. Patogenicity of entomopathogenic fungi to *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 2, p. 126-133, 2014.

THOEMING, G.; DRAEGER, G.; POEHLING, H.M. Soil application of azadirachtin and 3-tigloyl-azadirachtol to control western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae): translocation and persistence in bean plants. **Pest Management Science**, v. 62, p. 759-767. 2006.

UPL. Defensivos agrícolas. Disponível em: <<https://www.upl-ltd.com/br/defensivos-agricolas/biologicals/azamax>>. Acesso em: 20 fev. 2020.

VEGA, F.E.; MEYLING, N.V.; LUANGSA-ARD, J.J.; BLACKWELL, M. Fungal entomopathogens. In. **Insect Pathology**. (2a Edition). pp. 171-220. 2012.

WEATHERSBEE, A.A.; MCKENZIE, C.L. Effect of a neem biopesticide on repellency, mortality, oviposition, and development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 88, p. 401-408, 2005.

XIAO, G.; YING, S.H.; ZHENG, P.; WANG, Z.L.; ZHANG, S.; XIE, X.Q.; SHANG, Y.; LEGER, R.J.S.T.; ZHAO, G.P.; WANG, C.; FENG, M.G. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports**, v. 2, pp. 1-10. 2012.

2. ATIVIDADE DE UM PRODUTO A BASE DE AZADIRACTINA SOBRE *Oligonychus yothersi* (MCGREGOR) (ACARI: TETRANYCHIDAE) EM PLANTAS DE ERVA-MATE

RESUMO O controle de populações de ácaros fitófagos que prejudicam a agricultura é possível ser realizado com a utilização de bioacaricidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de Azamax[®] sobre *O. yothersi* através da irrigação sistêmica de plantas de erva-mate. Para avaliar a atividade sobre adultos foram realizadas três aplicações semanais em 10 plantas (70 ml na base da planta - 2,5, 4,0, 5,5 ml/L e água destilada). Após 7, 14 e 21 dias da primeira aplicação uma folha/planta foi retirada e infestada com 15 fêmeas adultas. As avaliações ocorreram diariamente/5 dias para verificação de mortalidade e oviposição. Para avaliar a atividade no desenvolvimento, sobrevivência e fecundidade, 15 mudas de erva-mate foram irrigadas com Azamax[®] 2,5 ml/L e o grupo controle foi tratado com água destilada. Após sete dias, as folhas foram coletadas e preparadas arenas. A biologia iniciou com 30 ovos/tratamento. As fases imaturas foram avaliadas três vezes ao dia e na fase adulta apenas uma vez ao dia. Azamax[®] afetou a viabilidade de ovo-adulto em 50% nos ácaros tratados e 63% no grupo controle. Na fecundidade média houve diferença significativa, sendo o maior valor no controle (34 dias) e o menor para plantas irrigadas com Azamax[®] (19,4 dias). A maior mortalidade observada foi na terceira semana de aplicação da menor dosagem, com 62,7% de mortalidade. Não houve diferença significativa entre as diferentes dosagens testadas e tampouco entre a quantidade de irrigações realizadas. Porém, as diferentes concentrações de Azamax[®] demonstraram ação acaricida sobre as populações de *O. yothersi*, afetando a sobrevivência e a fecundidade. O produto demonstrou atividade acaricida e tem potencial como alternativa para controle de populações de *O. yothersi* quando utilizado na irrigação sistêmica de plantas de erva-mate.

Palavras-chave: irrigação sistêmica, ácaro fitófago, *Ilex paraguariensis*.

ACTIVITY OF AN AZADIRACHTIN-BASED PRODUCT ON *Oligonychus yothersi* (MCGREGOR) (PROSTIGMATA: TETRANYCHIDAE) IN YERBA MATE

ABSTRACT The control of phytophagous mites populations that affect the agriculture is possible with the use of bioacaricides. The aim of this work was to evaluate the Azamax[®] activity on the spider mite *Oligonychus yothersi* by systemic irrigation of yerba mate plants. To evaluate the activity on adults, 3 weekly applications were performed in 10 plants (70 ml at the base of the plant – 2.5, 4.0, 5.5 ml/L and distilled water). After 7, 14 and 21 days from the first application, one leaf/plant was removed and infested with 15 adult females. The evaluation was done daily/5 days to verify mortality and oviposition. To evaluate the effect on development, survival and fertility, 15 seedlings of yerba mate were irrigated with Azamax[®] 2.5 ml/L and the control group was treated with distilled water. After 7 days, leaves were collected and arenas were made. The life table started with 30 eggs/treatment. Immature stage was evaluated three times a day and adult stage one time a day. Azamax[®] affected the viability of egg-adult, being 50% in treated mites and 63% in control group. The average fecundity was significant difference, with the highest value in the control group (34 days) and the lowest values to plants irrigated with Azamax[®] (19.4 days). The highest mortality observed was in the third week of application of the lowest dose, with 62.7% of death. There was no significant difference between the tested dosages and the amount of irrigation performed. However, different Azamax[®] concentrations showed acaricidal action on *O. yothersi* populations, affecting survival and fecundity. Thus, the product showed acaricidal activity and has potential as an alternative to control *O. yothersi* populations when used with systemic irrigation of yerba mate plants.

Keywords: systemic irrigation, phytophagous mite, *Ilex paraguariensis*

2.1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (St Hil., 1822) (Celastrales: Aquifoliaceae) ocorre naturalmente no Brasil, Argentina e Paraguai (DE OLIVEIRA & ROTTA, 1985), constituindo-se em um dos sistemas agroflorestais mais antigos. Apresenta grande importância ambiental e socioeconômica principalmente para o Rio Grande do Sul e o Paraná, que são os maiores produtores de erva-mate do Brasil (IBGE, 2018b). As folhas da planta são tradicionalmente utilizadas em bebidas, servindo como matéria prima para alimentos, cosméticos e estudos farmacológicos (OLIVEIRA & WAQUIL, 2015).

Atualmente é explorada em monocultivos ampliando assim a oferta de folhas. Porém, essas áreas apresentam perda de biodiversidade em relação às áreas naturais e conseqüentemente populações mais elevadas de organismos com potencial de *status* de pragas (ALVES et al. 2000; PENTEADO et al. 2000), como constatado por Borges et al. (2003) que verificaram em ervais nativos a menor ocorrência de pragas que em plantios adensados.

Dentre os ácaros que atacam a cultura, destaca-se o ácaro-vermelho da erva-mate, *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Prostigmata: Tetranychidae) que é encontrado atacando a região adaxial de folhas maduras da erva-mate causando o bronzeamento e a queda das folhas quando em infestações elevadas (ALVES et al. 2000; ALVES et al. 2004; MARCHETTI & SIEBERT, 2005; GOUVEA et al. 2006).

No Brasil, não é permitido o uso de agrotóxicos para o controle de pragas da cultura da erva-mate (AGROFIT, 2020) o que justifica a busca por alternativas. Por outro lado, produtos derivados da planta nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (Sapindales: Meliaceae) são utilizados para o controle de diversas pragas agrícolas (WEATHERSBEE e MCKENZIE, 2005). O principal ingrediente ativo da planta é a azadiractina, com reconhecida ação repelente, fagoinibidora e de interferência no desenvolvimento e reprodução de ácaros e insetos (SCHMUTTERER, 1990; NISBET, 2000; WEATHERSBEE &

MCKENZIE, 2005; SILVA et al. 2009; SCHLESENER et al. 2013; ABEDI et al. 2014; SANCHEZ-RAMOS et al. 2014). A forma mais comum da utilização do nim é o óleo, abundante nos frutos e sementes, porém, no Brasil, há também o produto Azamax[®] que é um concentrado emulsionável contendo 1,2% de azadiractina A e B (12g/L) em óleo vegetal (UPL, 2020).

Existem diversos relatos sobre a utilização de derivados do nim no controle de insetos e ácaros praga, em diferentes formas de aplicação em cultivos orgânicos e convencionais (SCHMUTTERER, 1990; WEATHERSBEE e MCKENZIE, 2005; SILVA et al. 2009; BERNARDI et al. 2013; SCHLESENER et al. 2013; ABEDI et al. 2014). Especificamente em relação ao ácaro-vermelho da erva-mate, comprovou-se em campo, a ação de um produto à base de azadiractina (Azamax[®]) na concentração de 2,5 ml/L pulverizado sobre folhas de erva-mate, causando cerca de 90% de mortalidade de ácaros, repelência e ação ovicida em laboratório. E ainda a redução de 59,6% de ácaros em campo, pulverizando-se o produto nas folhas (ALVES et al. 2016).

Além da pulverização, também vem sendo estudada a irrigação como forma de aplicação de azadiractina visando ao controle de insetos e ácaros praga (HUMMEL & KLEEBERG, 2010), pois é sabido que a azadiractina apresenta circulação sistêmica nas plantas (THOEMING et al. 2006). Nesse sentido, Sundaram et al. (1995) observaram a redução na população do ácaro *Tetranychus urticae* (Koch) em plantas de álamo tratadas com azadiractina via irrigação. Azamax[®] também foi avaliado via irrigação sistêmica contra ácaros-praga do coqueiro, obtendo resultados satisfatórios quanto à mortalidade e ação sobre o desenvolvimento destes fitófagos (SUJATHA et al. 2005; BAGDE, et al. 2014; HEGADE et al. 2017).

Considerando os resultados já obtidos com a irrigação do produto Azamax[®] contra *O. yothersi*, este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a atividade do produto aplicado via irrigação em plantas de erva mate sobre o ácaro-vermelho.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste, *Campus* de Cascavel, PR, e no Laboratório de Acarologia da Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado RS. Os bioensaios foram desenvolvidos em condições controladas (26 ± 1 °C, Umidade Relativa (UR) = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase). O produto utilizado nos testes foi o Azamax[®], que contém 1,2% de azadiractina A e B (12 g/L) (UPL, 2020).

2.2.1 Manutenção das mudas de erva-mate

As mudas de erva-mate, utilizadas nos experimentos foram obtidas de um produtor comercial e possuíam tamanho homogêneo de aproximadamente 20 cm de altura. As plantas foram cultivadas em recipientes plásticos (700 ml) contendo composto orgânico Humiterra[®] (húmus de minhoca com terra, carvão vegetal e casca de pinus moída), foram mantidas em ambiente protegido com tela de polipropileno 50% e receberam irrigação de 30 mL de água a cada dois dias (Figura 1).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 1. Mudanças de erva-mate em recipientes plásticos com substrato (A); ambiente protegido com as mudas padronizadas para os bioensaios (B).

Durante os períodos de experimento, as mudas utilizadas receberam 20 ml de água destilada a cada dois dias para a sua manutenção em

laboratório.

Anterior ao início de cada experimento, as plantas foram mantidas 24h sem irrigação e as folhas das plantas foram limpas com o auxílio de algodão umedecido com solução de hipoclorito de sódio (1%) e água destilada para evitar a presença de organismos.

2.2.2 Criação estoque dos ácaros

A criação estoque de *Oligonychus yothersi* foi estabelecida a partir de ácaros provenientes de plantas de erva-mate do erval comercial Erva-Mate Laranjeiras (24°58'05.2"S 53°24'22.5"W) da cidade de Cascavel – PR (Figura 2).

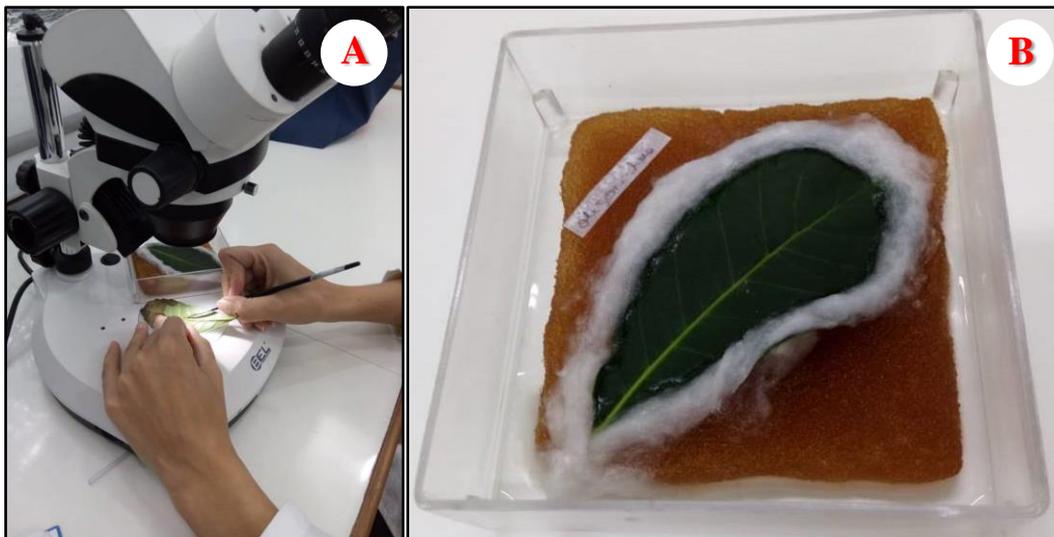


Fonte: Arquivo pessoal

Figura 2. Erval onde foram realizadas as coletas de folhas de erva-mate (A); coleta de folhas de erva-mate contendo *O. yothersi* (B).

Após a coleta, as folhas com ácaros foram transportados em sacos plásticos até o laboratório para posterior triagem. Os ácaros foram mantidos em caixas plásticas (Gerbox de 11 cm x 11 cm x 3 cm de altura) contendo uma folha de erva-mate cada, com a face adaxial voltada para cima e com as bordas envoltas por algodão umedecido para evitar a fuga dos espécimes. As folhas estavam dispostas sobre espuma de poliuretano umedecida com água destilada em caixa tipo gerbox (11 cm x 11 cm x 3 cm de altura) (Figura 3). Utilizando pincel de ponta fina, 20 fêmeas acasaladas e cinco machos foram

transferidos para as arenas que foram mantidas em bandejas retangulares de plástico a 26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$, fotofase de 12h para estabelecimento e manutenção das criações. As folhas de erva-mate eram trocadas a cada duas semanas ou de acordo com a necessidade, observando-se o estado em que as folhas se encontravam.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 3. Triagem de material de campo para estabelecimento da criação de *O. yothersi* (A); Gerbox para manutenção da criação estoque de *O. yothersi* (B).

2.2.3 Bioensaios

2.2.3.1 Atividade sobre fertilidade e mortalidade de adultos

Foram selecionadas 40 plantas de erva-mate e diariamente, durante cinco dias foram irrigadas com 20 ml de água destilada. No sexto dia, suspendeu-se a irrigação e após 24h, as plantas foram divididas em grupos de 10 e receberam junto à sua base uma aplicação de 70 ml de solução do produto Azamax[®], sendo as dosagens testadas, 2,5 (dosagem recomendada para a maioria das culturas), 4,0 e 5,5 ml/L em água destilada (segundo a orientação do fabricante), sendo 10 plantas para cada concentração testada. Também, foi preparado um grupo controle que recebeu apenas água destilada. Após a aplicação, as mudas foram mantidas em casa de vegetação

e receberam diariamente a irrigação de 20 ml de água destilada. Uma semana após a aplicação, retirou-se uma folha de cada planta para a confecção das arenas e cada folha recebeu 15 fêmeas adultas acasaladas provenientes da criação estoque (RODE et al. 2018). Após retirar as folhas, repetiu-se todo o procedimento de manutenção das plantas com rega diária por seis dias, jejum hídrico de 24h e irrigação com as respectivas soluções de Azamax[®]. Os bioensaios foram repetidos nas duas semanas seguintes, para avaliação de possíveis efeitos do produto no decorrer de três semanas. Ou seja, foi realizada uma irrigação semanal com montagem de bioensaios na sequencia durante três semanas. Todas as arenas foram avaliadas diariamente às 13h, durante cinco dias para verificação da mortalidade e contagem dos ovos. Eram considerados mortos os indivíduos que não reagiram ao toque do pincel. Após esse período, as fêmeas sobreviventes foram retiradas das arenas e os ovos avaliados diariamente por mais sete dias para avaliação de fertilidade. As arenas foram mantidas em bandeja retangular (38 x 27 cm), e permaneceram a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR = $60 \pm 10\%$, fotofase de 12h, durante o período de avaliação dos bioensaios (Figura 4).

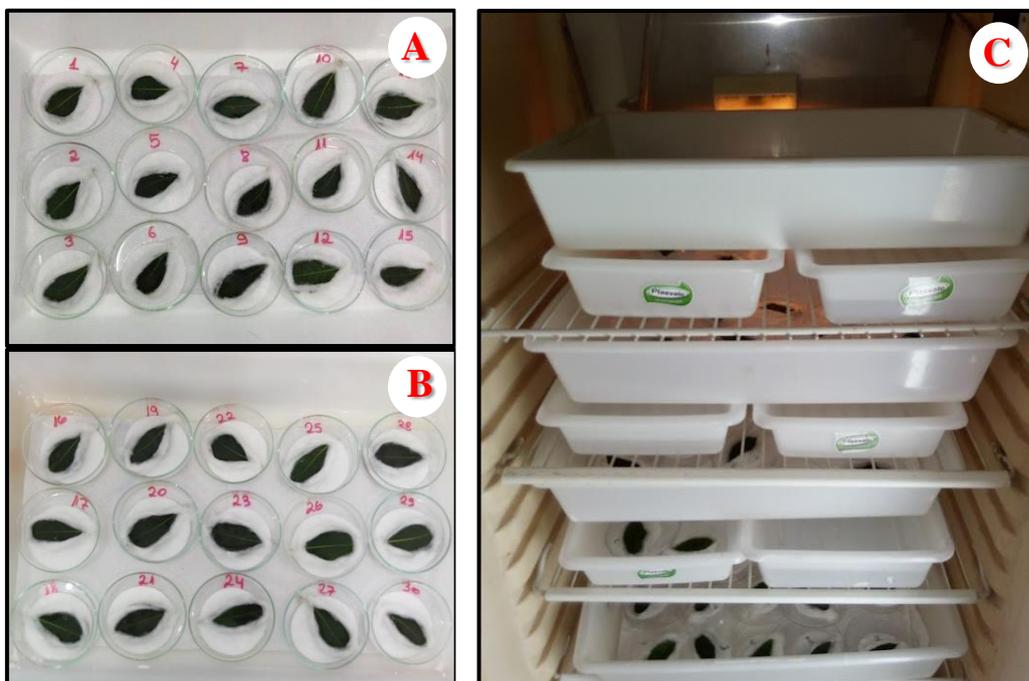


Fonte: Arquivo pessoal

Figura 4. Arenas do experimento de atividade sobre fertilidade e mortalidade de adultos de *Oligonychus yothersi* (A).

2.2.3.2 Efeito sobre a biologia

Mudas de erva-mate previamente selecionadas foram divididas em dois grupos iguais (30 plantas cada), no primeiro as mudas foram irrigadas com Azamax[®] conforme descrito anteriormente, porém somente utilizando o produto na concentração recomendada para a maioria das culturas, 2,5 ml/L, e o segundo recebeu apenas água destilada (controle). Uma folha de cada planta foi retirada para montagem de arenas conforme adaptadas de Toldi et al. (2016) (Figura 5).



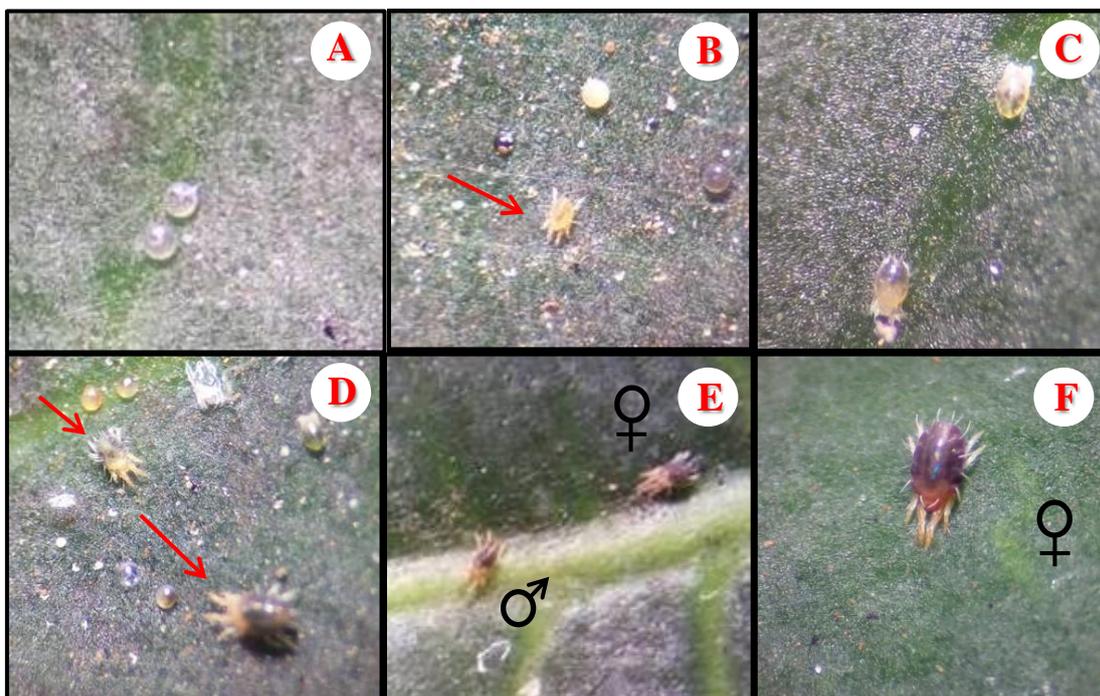
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 5. Arenas utilizadas no bioensaio de atividade no desenvolvimento, sobrevivência e fecundidade de *Oligonychus yothersi* (A) (B), em câmara B.O.D. para manutenção das bandejas com as arenas durante o período de experimento (C).

Em cada arena foram colocadas três fêmeas adultas fecundadas provenientes da criação estoque e foram mantidas durante 24h para oviposição (RODE et al. 2018). Após esse período, as fêmeas foram retiradas e manteve-se em cada arena apenas um ovo. As arenas foram mantidas em

bandejas retangulares de plástico (38 x 27 cm), permanecendo em câmara de germinação a 26 ± 1 °C; UR = $60 \pm 10\%$, fotofase de 12h durante o período dos bioensaios. Foram preparadas 30 arenas para cada tratamento, sendo cada uma considerada uma repetição.

Durante o desenvolvimento das fases imaturas foram realizadas três observações diárias (8, 13 e 18h) para acompanhar o desenvolvimento (ovo, larva, protoninfa e deutoninfa) e mortalidade dos ácaros (Figura 6). Assim que atingiram a fase adulta, foi inserido um macho obtido da criação estoque em cada uma das arenas com fêmeas e diariamente, às 13h realizou-se a avaliação, a fim de verificar o número de ovos postos e a sobrevivência das fêmeas. Os ácaros machos que atingiram a fase adulta foram avaliados apenas para verificar o tempo de sobrevivência.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 6. Fases do desenvolvimento ovo-adulto de *Oligonychus yothersi*, Ovos (A), Larva (B), Crisalidas (C), Protoninfa e Deutoninfa (D), Adultos (macho e fêmea) (E), Fêmea adulta (F).

2.2.4 Análise de dados

Para realização dos testes estatísticos foram previamente testados os

pressupostos de normalidade por Shapiro-Wilk e Homogeneidade das variâncias por Bartlett. Em seguida os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com duas vias para determinar se haveriam diferenças entre os tratamentos. O software utilizado foi Statistica versão 7.0.

Foi utilizado o teste de Tukey ($p < 0,05$) como PostHoc para comparações múltiplas entre as semanas, entre os tratamentos e entre os tratamentos associados as semanas, utilizando o software Graphpad PRISMA 8.02 [versão de avaliação]. Para a correção da mortalidade, utilizou-se a fórmula de Schneider-Orelli.

De forma semelhante, utilizou-se o teste de Tukey ($p < 0,05$) para avaliar a duração de cada fase imatura, ovo, larva, protoninfa e deutoninfa, de ambos os tratamentos utilizando o *software* Bioestat 5.3.

Para a comparação da fecundidade média e duração em dias dos períodos de pré-oviposição, oviposição e longevidade de *Oligonychus yothersi* do tratamento com o controle, as médias foram submetidas ao teste t ($p < 0,05$), utilizando o *software* Bioestat 5.3.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Atividade sobre fertilidade e mortalidade de adultos

O produto Azamax[®] apresentou efeito sobre a fertilidade de fêmeas de *Oligonychus yothersi*, tanto na variação da concentração quanto no número de aplicações (Tabela 1).

Na maior concentração, a oviposição média variou entre 141,4 e 84,6 ovos, sendo constatada menor quantidade de ovos apenas na terceira semana. Quanto ao tratamento 4,0 ml/L, a oviposição apresentou o maior valor na primeira aplicação (128,5) e reduziu significativamente na segunda e terceira aplicações (70,1 e 75,4 respectivamente). Na menor concentração avaliada a quantidade de aplicações do produto não apresentou diferença significativa (Tabela 1).

Com relação às concentrações testadas, na primeira aplicação, apenas

na menor concentração houve redução significativa da oviposição (75,9 ovos) diferindo-se das demais concentrações e do controle. Contudo, na segunda semana, o tratamento 4,0 ml/L de Azamax[®] diferiu-se estatisticamente das demais concentrações, apresentando a menor oviposição com 70,1 ovos, enquanto os demais tratamentos não diferiram do grupo controle. Na terceira semana, não houve diferença significativa entre os tratamentos, diferindo apenas o grupo controle, sendo o mesmo constatado na média final (Tabela 1). No geral, os resultados indicaram que o produto nas três concentrações avaliadas apresentou efeito na oviposição.

Tabela 1. Número médio de ovos obtidos de fêmeas adultas de *Oligonychus yothersi* em folhas de erva-mate após irrigações semanais de Azamax[®] (azadiractina A/B 12g/L) nas concentrações de 2,5, 4,0 e 5,5ml/L em laboratório (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).

Concentração (ml/L)	Aplicações				
	1ª	2ª	3ª	Média	Redução média (%)*
5,5	141,4 ± 20,09 Ba	141,8 ± 12,33 Ba	84,6 ± 9,6 Ab	122,6 ± 19 A	23,7
4,0	128,5 ± 17,9 Ba	70,1 ± 12,5 Ab	75,4 ± 13,1 Ab	91,3 ± 18,6 A	43,2
2,5	75,9 ± 14,1 Aa	115,5 ± 22,5 Ba	77,6 ± 5,0 Aa	89,6 ± 12,9 A	44,2
Controle	169,1 ± 14,0 Ba	155,8 ± 9,8 Ba	157,2 ± 9,4 Ba	160,7 ± 4,2 B	-

Médias (± EP) seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05); *em relação ao grupo controle.

Semelhante aos resultados encontrados na oviposição, a eclosão de ovos de *Oligonychus yothersi*, na primeira semana de aplicação apresentou diferença significativa somente na diluição de 2,5ml/L, já os outros tratamentos foram semelhantes entre si e ao grupo controle. Já na segunda semana de aplicação, o tratamento 4,0ml/L diferiu-se das demais diluições e do controle, sendo novamente semelhante aos resultados obtidos nas avaliações de oviposição. Na terceira aplicação, as três diluições foram estatisticamente iguais, diferindo-se somente do grupo controle, que apresentou valor maior do que os tratamentos no período (Tabela 2).

Verificou-se que igualmente à oviposição, houve redução de forma

mais significativa na terceira semana, período este em que todos os tratamentos com Azamax[®] diferiram estatisticamente do grupo controle, com uma menor taxa de eclosão dos ovos (Tabela 2).

Assim como para a oviposição, nota-se que a eclosão é afetada de forma menos abrupta nas primeiras semanas para o tratamento na concentração de 5,5 ml/L de Azamax[®], enquanto na terceira semana o efeito é significativamente aumentado. Diferentemente, o tratamento com a concentração intermediária apresentou redução da eclosão a partir da segunda semana e o tratamento com 2,5 ml/L apresentou o maior valor de eclosão na segunda semana de avaliação. Os maiores valores de redução da eclosão foram registrados para os tratamentos com as dosagens 2,5 e 4,0 ml/L de Azamax[®] (Tabela 2).

TABELA 2 – Fertilidade de ovos de fêmeas adultas de *Oligonychus yothersi* em folhas de erva-mate após irrigações semanais de Azamax[®] (Azadiractina A/B 12g/L) nas concentrações de 2,5, 4,0 e 5,5ml/L em laboratório (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).

Concentração (ml/L)	Aplicações						Média Final	Redução *
	1 ^a	%**	2 ^a	%	3 ^a	%		
5,5	129,7 ± 13,8 Aa	91,96	130,5 ± 7,3 Aa	91,82	73 ± 8,1 Bb	97,17	111,1 ± 19 B	27,35%
4,0	117,3 ± 18,4 Aa	89,12	62,2 ± 13,1 Bb	87,02	65,7 ± 14,4 Bb	85,79	81,7 ± 17,8 BC	46,54%
2,5	65 ± 11,2 Bb	84,62	106 ± 16,8 Aa	92,60	66,9 ± 6,11 Bb	85,79	79,3 ± 13,3 BC	48,13%
Controle	157,3 ± 13,2 Aa	93,23	149,9 ± 9,5 Aa	96,31	151,5 ± 9,9 Aa	97,17	152,9 ± 2,2 A	-

Médias (± EP) seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05); *em relação ao grupo controle; **em relação à oviposição

Em relação à avaliação de mortalidade, verificou-se que com uma aplicação não houve efeito significativo do produto (Tabela 3). Contudo, na 2ª aplicação, a mortalidade de ácaros nos tratamentos com 4,0 e 5,5 ml/L foi estatisticamente maior (47,3 e 48%, respectivamente). A maior mortalidade observada na terceira aplicação ocorreu no tratamento de menor dosagem, com 62,7% de ácaros mortos. Além disso, verificou-se aumento da mortalidade acumulada.

Quanto à comparação do desempenho dos tratamentos em função da quantidade de aplicações, apenas o tratamento com a maior concentração do produto apresentou o mesmo desempenho em todas as avaliações, independentemente da quantidade de aplicações. O tratamento 4,0 ml/L apresentou aumento de mortalidade a partir da segunda semana e manteve desempenho semelhante na terceira semana. Já a menor concentração avaliada apresentou aumento de mortalidade apenas na terceira semana de avaliação (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade de fêmeas adultas de *Oligonychus yothersi* em folhas de erva-mate após irrigações semanais de Azamax[®] (Azadiractina A/B 12g/L) nas concentrações de 2,5, 4,0 e 5,5ml/L em laboratório (26 ± 1 °C, UR = 60 ± 10% e 12h de fotofase).

Concentração (ml/L)	Aplicações (%)						Aumento (%)**
	1 ^a	MC%*	2 ^a	MC%*	3 ^a	MC%*	
5,5	38,0 ± 1,06 Aa	16,0	48,0 ± 1,12 Aa	24,5	39,3 ± 1,29 Ba	14,6	48,35
4,0	28,0 ± 0,85 Ab	2,4	47,3 ± 1,29 Aa	23,5	49,3 ± 1,79 Aa	28,7	44,54
2,5	38,0 ± 1,56 Ab	15,9	28,7 ± 1,39 Bb	-	62,7 ± 1,03 Aba	47,5	50,1
Controle	26,2 ± 0,87 Aa	-	31,1 ± 1,09 Bb	-	28,9 ± 0,67 Ba	-	-

Médias (± EP) seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05); *MC = mortalidade corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli; **em relação ao grupo controle.

2.3.2 Efeitos sobre a biologia

Para as fases imaturas de *Oligonychus yothersi* que se alimentaram em folhas das plantas tratadas com o produto houve variação apenas na duração dos períodos de incubação, que foi significativamente menor para ovos provenientes de fêmeas das plantas tratadas com Azamax[®] (3,9 dias), em relação a fêmeas do tratamento controle (4,1 dias) e de larva 2,1 dias para Azamax[®] e 1,4 dias para controle. Contudo, o período larval apresentou resultado inverso, sendo significativamente maior nos indivíduos das plantas tratadas (2,1 dias) em comparação ao controle (1,4 dias). Houve diferença significativa na duração média em dias de ovo-adulto, sendo 10,7 dias para as plantas tratadas com Azamax[®] e 9,9 dias no controle. A duração da fase de protoninfa e deutoninfa não foram afetados pelas diferentes irrigações testadas. Com exceção dos ovos, a viabilidade dos indivíduos de cada uma das diferentes fases imaturas foi menor quando estavam sob efeito do produto Azamax[®] (Tabela 4).

Tabela 4. Duração média (em dias \pm EP) e viabilidade (%) dos estádios imaturos de *Oligonychus yothersi* alimentados em folhas de plantas de erva-mate tratadas com 2,5 ml/L de Azamax[®] via irrigação sistêmica (26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase).

Tratamento	Duração média (dias)					
	N*	Ovo	Larva	Protoninfa	Deutoninfa	Duração Ovo-adulto
Azamax [®] 2,5ml/L	30	3,9 \pm 0,06 B	2,1 \pm 0,22 A	1,9 \pm 0,16 A	2,2 \pm 0,17 A	10,7 \pm 0,21 A
Viabilidade (%)		100	83,3	84,0	71,4	50,0
Controle	30	4,1 \pm 0,08 A	1,4 \pm 0,12 B	1,6 \pm 0,10 A	1,8 \pm 0,15 A	9,9 \pm 0,19 B
Viabilidade (%)		100	96,7	86,2	76,0	63,3

*Número de ácaros avaliados; **Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Houve diferença significativa no tempo de duração em dias das fases de pré-oviposição das fêmeas de *O. yothersi*, sendo de 2,4 dias para o controle, e 1,9 dias para o Azamax[®]. Já os períodos de oviposição e longevidade das fêmeas não foram

afetados pelo produto (Tabela 5).

Contudo, o produto Azamax[®] interferiu na longevidade dos machos, com redução de aproximadamente 50% no tempo de vida. Em relação a fecundidade média de *O. yothersi*, os resultados indicaram redução significativa, obtendo-se os maiores valores nas fêmeas da testemunha (34,0 ovos/fêmea) em relação àquelas provenientes de plantas com Azamax[®] (19,4 ovos/fêmea).

Tabela 5. Fecundidade (número total de ovos/fêmea \pm EP) e duração em dias dos períodos de pré oviposição, oviposição e longevidade de *Oligonychus yothersi* mantidas em folhas de erva-mate de plantas tratadas com 2,5 ml/L de Azamax[®] e água destilada (controle) via irrigação sistêmica (26 \pm 1 °C, UR = 60 \pm 10% e 12h de fotofase).

Parâmetro avaliado	Tratamento			
	N*	Controle	N*	Azamax [®]
Fecundidade	11	34,0 \pm 6,12 A	10	19,4 \pm 2,95 B
Pré-oviposição	14	2,4 \pm 0,17 A	10	1,9 \pm 0,10 B
Oviposição	11	9,5 \pm 1,60 A	10	8,1 \pm 1,45 A
Longevidade da fêmea	14	10,0 \pm 1,66 A	10	12,0 \pm 1,42 A
Longevidade do macho	5	18,0 \pm 1,30 A	5	9,6 \pm 3,08 B

*N = número de ácaros avaliados; Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste t (P < 0,05)

2.3.3 DISCUSSÃO

Produtos à base de azadiractina agem como repelentes, reduzem os níveis populacionais e a oviposição de diversos organismos considerados praga (WEATHERSBEE & MCKENZIE, 2005).

Alves et al. (2016) avaliaram o produto Azamax[®] na dosagem recomendada pulverizado sobre adultos de *O. yothersi* e constataram efeito negativo na sobrevivência e eclosão, sendo contrastante com o observado no presente estudo.

Segundo Souza & Vendramim (2005), a aplicação via irrigação pode aumentar a persistência da azadiractina em comparação à aplicação foliar, pois o produto sofre rápida fotodegradação das substâncias ativas (WEINTRAUB &

HOROWITZ, 1997). Sabe-se que a azadiractina é sensível à fotodegradação, sendo assim a aplicação através de irrigação do solo representa uma vantagem em relação à pulverização, em função da menor interferência dos fatores ambientais, possibilitando maior tempo de proteção às plantas tratadas e menor impacto aos organismos não-alvo, ao homem e ao ambiente (WEINTRAUB & HOROWITZ, 1997; MOREIRA et al. 2006; TUREK & STINTZING, 2013).

Considerando o sucesso da utilização do nim em programas de controle de insetos, e seu potencial como pesticida, faz-se importante que sua ação sistêmica para o controle de ácaros seja mais explorada (SUNDARAM et al. 1995). Apesar de ser conhecida a ação via pulverização do óleo de nim (PASINI et al. 2003) e a eficiência em campo da azadiractina sobre o ácaro-vermelho da erva-mate (ALVES et al. 2016), seu efeito sistêmico na planta para controle de *O. yothersi*, ainda não havia sido estudado.

De acordo com estudos, a azadiractina aplicada junto ao solo é absorvida de forma sistêmica pelas raízes da planta (THOEMING et al. 2006), sendo que os resultados aqui obtidos demonstraram que este efeito ocorreu, ainda que não se tenha realizado um estudo fitoquímico. Tal como observado por Sujatha et al. (2005), ao testarem um produto comercial à base de azadiractina o mesmo se mostrou eficiente para ser incorporado a um programa de controle de espécies de ácaros eriofídeos de plantas de coco, *Cocos nucifera* L.

No presente estudo, a viabilidade total de ovo-adulto para *O. yothersi* em folhas de plantas de erva-mate foi 50% para folhas irrigadas com Azamax[®] e de 63,3% para o Controle. De acordo com Mordue & Balckwell (1993) azadiractina inibe crescimento e causa morte de formas jovens durante o processo de ecdise. Além disso, causa o alongamento da fase larval, confirmando os resultados aqui obtidos. Em adultos, o produto provoca redução na longevidade, fecundidade e fertilidade, confirmando os valores obtidos neste estudo (MORDUE & BALCKWELL, 1993). Isso pode ainda, justificar os valores observados na viabilidade das fases jovens dos ácaros mantidos em folhas com irrigação do produto, e também a diferença observada entre tratamento e controle em algumas etapas da fase imatura. Estes resultados ainda podem comprovar a ação sistêmica do produto Azamax[®] na planta irrigada com o produto (THOEMING et al. 2006).

Os dados de mortalidade do presente trabalho corroboram resultados observados por Hegade et al. (2017), que testaram um produto comercial à base de azadiractina aplicado junto às raízes de plantas de coqueiro, e obtiveram resultados expressivos na redução populacional do ácaro Eriophyidae com a dosagem recomendada do produto.

Em relação às concentrações testadas, na maioria delas a oviposição média variou entre 141,4 e 84,6 sendo constatada menor quantidade de ovos somente na terceira semana.

A ação sobre a fecundidade também foi observada por Sundaran et al. (1995), que avaliaram a ação sistêmica de azadiractina em plantas de álamo. As raízes receberam e incorporaram em 3h, aproximadamente 2,2% da quantidade de azadiractina aplicada ao solo, e isso foi eficiente para causar a mortalidade do ácaro *Tetranychus urticae*. Essa rápida absorção observada pelos autores justifica o efeito observado sobre *O. yothersi* desde as primeiras etapas da fase imatura e na viabilidade de ovo-adulto dos testes realizados com os ácaros jovens neste trabalho. O fato de que as três concentrações avaliadas tenham apresentado desempenho semelhante na redução da fecundidade de *O. yothersi* pode ser devido à saturação do produto na planta ou até mesmo à reação da planta para se proteger da quantidade de produto recebida. Neste sentido, Cosme et al. (2009) afirmam que os diferentes níveis de toxicidade presentes em produtos à base de azadiractina estão relacionados a diferenças genéticas, dosagem utilizada, tempo e forma de exposição dos organismos aos resíduos, assim como a formulação utilizada durante os bioensaios.

Ainda, Sundaram et al. (1995) relataram que os resultados no controle de *T. urticae* pela ação sistêmica de azadiractina no álamo diminuíram em 30 dias. O resíduo final do produto no solo após 50 dias foi de 2,5% do valor inicial e o pico de absorção e translocação de azadiractina pelas partes da planta ocorreram 10 dias após a aplicação. Desta forma, a quantidade de produto que cada planta absorve através da irrigação sistêmica é diferente, sendo necessária uma investigação específica para avaliar esses parâmetros na cultura em estudo para poder determinar seu pico de toxicidade e seu ponto de saturação. Da mesma maneira é possível justificar a variação observada entre os resultados de fertilidade,

fecundidade e mortalidade ao longo das três semanas de irrigação que as plantas receberam.

Apesar de ter sido observada diferença significativa sobre fertilidade e mortalidade de fêmeas de *O. yothersi* adultas submetidas ao produto, não houve um padrão nos resultados que indique a efetividade do produto. É provável que isso tenha ocorrido pelo fato das fêmeas já adultas apresentarem seu desenvolvimento completo, inclusive sexual. Isso porque já se sabe que o sistema reprodutivo pode ser afetado pela azadiractina e alterações nas gônadas, tanto de machos como de fêmeas podem reduzir a postura e a viabilidade dos ovos, e conseqüentemente, interferir no crescimento populacional de uma praga (ALVES et al. 2014; CRUZ et al. 2014; 2016). Por outro lado, comprovou-se a ação negativa da azadiractina sobre a reprodução de *O. yothersi* quando os ácaros foram mantidos durante todo o período de vida, desde a fase de ovo em arenas com o tratamento e quando os ácaros demonstraram maior sensibilidade à azadiractina, nas fases de ovo e larva nas fases de desenvolvimento.

A ação de Azamax[®] sobre o ácaro, a partir da irrigação sistêmica de plantas de erva-mate, foi comprovada, contudo, sem diferença significativa entre as concentrações utilizadas e tampouco entre a quantidade de irrigações do produto que as plantas receberam. Assim, a dosagem recomendada de 2,5ml/L seria suficiente para controlar populações do ácaro vermelho da erva-mate.

Além da ação acaricida, o produto se mostrou seguro para a erva-mate, uma vez que não se observou ação negativa sobre as plantas, em nenhuma das concentrações testadas, confirmando assim o potencial do produto como alternativa sustentável para manejo de populações de *O. yothersi*.

Os resultados apresentados no presente estudo sugerem a utilização de Azamax[®] para irrigação principalmente de mudas em viveiros, onde o controle de *O. yothersi* pode ser realizado ainda de forma preventiva evitando-se possíveis infestações em campo após o transplante das mudas.

Contudo, para a efetiva utilização de Azamax[®] na forma sistêmica em plantas de erva-mate, é importante que sejam realizados testes para avaliação de possíveis efeitos sobre os inimigos naturais e demais organismos associados à cultura, a fim de determinar uma margem de segurança para as aplicações. Estudos futuros com

plantas adultas sendo irrigadas com a dosagem recomendada de Azamax[®] reforçariam os resultados do presente trabalho. Também, avaliar o produto em diferentes concentrações, em plantas já desenvolvidas e a persistência do produto, seria interessante para então fazer a recomendação do uso no controle do ácaro *Oligonychus yothersi*.

2.4 CONCLUSÃO

A dosagem recomendada de Azamax[®] apresentou ação acaricida sobre *O. yothersi*. Azamax[®] via irrigação sistêmica apresenta potencial para ser utilizado no controle de populações de *Oligonychus yothersi* em plantas de erva-mate.

2.5 REFERÊNCIAS

ABEDI, Z.; SABER, M.; GHAREKHANI, G.; MEHRVAR, A.; KAMITA, S. G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 638-645, 2014.

AGROFIT. 2020. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em 15 jan. 2020.

ALVES, L.F.A.; SANTANA, D.L.Q.; NEVES, P.M.O.J.; OLIVEIRA, R.C. Ácaros fitófagos da erva-mate: situação atual e perspectivas de controle. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIAO TECNICA DA ERVA-MATE, 3., 2000, Encantado. Anais. Porto Alegre: Comissão dos Organizadores/Universidade do Rio Grande do Sul/Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, p. 39-42, 2000.

ALVES, L.F.A.; SPONGOSKI, S., VIEIRA, F.D.S.; MORAES, G.D. Biologia e danos de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) em *Ilex paraguariensis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 211-214, 2004.

ALVES, L.F.A.; MARTINS, C.C.; MAMPRIM, A.P.; BOTTON, M. Azadirachtin on *Oligonychus yothersi* in yerba mate *Ilex paraguariensis*. **Ciência Rural**, v. 46, p. 1777-1782, 2016.

ALVES, T.J.S.; CRUZ, G.S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A.A.C.;

OLIVEIRA, J.V.; CORREIA, A.A.; CÂMARA C.A.G.; CUNHA, F.M. Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. **Biotechnology and Histochemistry**, v. 88, p. 1-11, 2014.

BAGDE, A. S.; PATIL, P.D.; PASHTE, V.V. Studies on efficacy of neem bio-pesticides against eriophyid mite (*Aceria guerreronis* Keifer.). **The Bioscan**, v. 9, p. 341-346, 2014.

BERNARDI, D.; BOTTON, M.; DA CUNHA, U.S.; BERNARDI, O.; MALAUSA, T.; GARCIA, M.S.; NAVA, D.E. Effects of azadirachtin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its compatibility with predatory mites (Acari: Phytoseiidae) on strawberry. **Pest Management Science**, v. 69, p. 75-80, 2013.

BORGES, L.R.; LÁZZARI, S.M.N.; LÁZZARI, F.A. Comparação dos sistemas de cultivo nativo e adensado de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil., quanto à ocorrência e flutuação populacional de insetos. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, p. 563-568, 2003.

COSME, L.V.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P.; PARREIRA, D.S. Toxicidade de óleo de nim para pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 233-238, 2009.

CRUZ, G.S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; OLIVEIRA, J.V.; CORREIA, A.A.; BREDÁ, M.O.; ALVES, T.J.S.; CUNHA, F.M.; TEIXEIRA, A.A.C.; DUTRA, K.A.; NAVARRO, D.M.A.F. Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae) oils, with or without formulated Bta on the biology and immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 144-153, 2014.

CRUZ, G.S., WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; OLIVEIRA, J.V.; LOPES, D.R.S. BARBOSA, M.O.; BREDÁ, K.A.; DUTRA, C.A.; GUEDES, D.M.A.; F. NAVARRO; TEIXEIRA, A.A.C. Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, p. 660-666, 2016.

DE OLIVEIRA, Y. M. M.; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10., 1983, Curitiba. Silvicultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*): Anais. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, p. 17-36, 1985.

GOUVEA, A.D.; BOARETTO, L.C.; ZANELLA, C.F.; ALVES, L.F. Populational dynamics of mites (Acari) in the mate-tea tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.: Aquifoliaceae). **Neotropical entomology**, v. 35, p. 101-111, 2006.

HEGADE, P.B.; DESAI, V.S.; NARANGALKAR, A.L.; PRABHUDESAI, S.S.; HALDANKAR, P.M. Effect of integrated management on coconut yield and per cent reduction in incidence of eriophyid mite *Aceria guerreronis* (Keifer) (Acarina: Eriophyidae). **Environment and Ecology**, v. 35, p. 2413-2417, 2017.

HUMMEL, E.; KLEEBERG, H. neemazal-t/s-registration situation in eu and other methods of application. **Studii și Cercetări**, v. 19, p. 25-27, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agro, 2017. Disponível em <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censoagro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76291>. Acesso em: 26 ago. 2018b.

MARCHETTI, M.M.; SIEBERT, J.C. Acarofauna (Acari) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.: AQUIFOLIACEAE) no estado do Rio Grande do Sul. **Biociências**, v. 13, n. 2, p. 133-142, 2005.

MORDUE, A.J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, Exeter, v. 39, p. 903- 924, 1993.

MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M.C.; SILVA, E.D.; MORENO, S.C.; MARTINS, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 89-120. 2006.

NISBET, A.J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 615-632, 2000.

OLIVEIRA, S.V.D.; WAQUIL, P.D. Dynamics of production and commercialization of yerba mate in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 45, p. 750-756, 2015.

PASINI, A.; CAPELO, S.M.; OLIVEIRA, R.C. Preliminary assays for efficiency avaluation of neem oil for control of *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, p. 315-316. 2003.

PENTEADO, S.; IEDE, E.T.; LEITE, M.S.P. Pragas da erva-mate: perspectivas de controle. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA MATE, 3., 2000, Encantado. Anais. Porto Alegre: Comissão dos Organizadores/Universidade do Rio Grande do Sul/Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, p. 27-38, 2000.

RODE, P. A.; TOLDI, M.; REICHERT, M. B.; JOHANN, L.; FERLA, N. J. 2018. Development of *Tetranychus ludeni* (Acari: Tetranychidae) on transgenic soybean cultivars. **Phytoparasitica**, v. 46, n 1, p. 137-141. 2018.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; PASCUAL, S.; MARCOTEGUI, A.; FERNÁNDEZ, C. E.; GONZÁLEZ-NÚÑEZ, M. (2014). Laboratory evaluation of alternative control methods against the false tiger, *Monosteira unicastata* (Hemiptera: Tingidae). **Pest**

Management Science, v. 70, p. 454-461, 2014.

SCHLESENER, D.C.H.; DUARTE, A.F.; GUERRERO, M.F.C.; CUNHA, U.S.D.; NAVA, D.E. Effects of neem on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and the predators *Phytoseiulus macropilis* (Banks) and *Neoseiulus Californicus* (Mcgregor) (Acari: phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 59-66, 2013.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadiractha indica*. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 271-297, 1990.

SILVA, A. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H. Atividade inseticida do nim (*Azadiractha indica* A. Juss). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, p. 7-15, 2009.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito translaminar, sistêmico e de contato de extrato aquoso de sementes de nim sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 83-87, 2005.

SUJATHA, A.; RAO, N.B.V.C.; RAO, D.V.R. Efficacy of eco-neem plus against coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* (Keif.). **Journal of Applied Zoological Researches**, v. 16, p. 126-127, 2005.

SUNDARAM, K.M.S.; CAMPBELL, R.; SLOANE, L.; STUDENS, J. Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Crop Protection**, v. 14, p. 415-421, 1995.

THOEMING, G.; DRAEGER, G.; POEHLING, H.M. Soil application of azadirachtin and 3-tigloyl-azadirachtol to control western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae): translocation and persistence in bean plants. **Pest Management Science**, v. 62, p. 759-767. 2006.

TOLDI, M.; REICHERT, M.B.; RODE, P. de A.; JOHANN, L.; FERLA, N.J. Influence of various preys in soybean and the biological performance of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Phytoseiidae). **Systematic and Applied Acarology**, v. 21, p. 1662-1670, 2016.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 40-53, 2013.

UPL. Defensivos agrícolas. Disponível em: <<https://br.uplonline.com/defensivos-agricolas/inseticidas/azamax>>. Acesso em: 12 Jan. 2020.

WEATHERSBEE, A.A.; MCKENZIE, C.L. Effect of a neem biopesticide on repellency, mortality, oviposition, and development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 88, p. 401-408, 2005.

WEINTRAUB, P.G.; HOROWITZ. A.R. Systemic effects of a neem insecticide on *Liriomyza huidobrensis* larvae. **Phytoparasitica**, v. 25, n. 4, p. 283-289. 1997.

3. SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Beauveria spp.* VISANDO AO CONTROLE DE *Oligonychus yothersi* (MCGREGOR, 1914) (PROSTIGMATA: TETRANYCHIDAE) NA ERVA-MATE

RESUMO Uma alternativa para controlar as populações de *Oligonychus yothersi* que atacam plantas de erva-mate é o controle biológico com fungos acaropatogênicos. O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *Beauveria spp.* para controle de *O. yothersi* em folhas de erva-mate. Foram testados 26 isolados de *Beauveria spp.* Previamente, a viabilidade dos conídios foi avaliada. Foi realizada a contagem em câmara de Neubauer e as suspensões foram ajustadas em $1,0 \times 10^9$ conídios viáveis/ml. As arenas consistiam em folhas de erva-mate com a face adaxial para cima, envoltas por algodão umedecido e dispostas sobre espuma em placas de Petri. Cada uma recebeu 15 fêmeas adultas. Para cada isolado, 1ml da suspensão $1,0 \times 10^9$ conídios/ml foi pulverizado em Torre de Potter sobre 5 arenas (75 ácaros/tratamento). No grupo controle foi pulverizado água destilada estéril + Tween 80 (0,01%). Foram realizadas análises de mortalidade diariamente/7 dias. A confirmação da mortalidade foi realizada em câmara úmida. A mortalidade total de *O. yothersi* variou entre 15 e 92% e a mortalidade confirmada teve variação entre 1 a 80%. Os isolados que se destacaram na primeira etapa da seleção foram UNIOESTE 53, 87 e 97, com mortalidade total acima de 70%, tendo estes parâmetros biológicos comparados. Nas avaliações dos parâmetros biológicos os isolados UNIOESTE 87 e 97 apresentaram melhores resultados, se comparados ao UNIOESTE 53. Os isolados selecionados foram UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97, sendo indicados para estudos posteriores.

Palavras-chave: ácaro vermelho, controle microbiano, isolados fungicos.

SELECTION OF ISOLATES OF *Beauveria spp.* FOR BIOLOGICAL CONTROL OF *Oligonychus yothersi* (MCGREGOR) (PROSTIGMATA: TETRANYCHIDAE) IN YERBA MATE

ABSTRACT An alternative to control *Oligonychus yothersi* populations that attack yerba mate plants is biological control with acaropathogenic fungus. The aim of this work was to select the isolates of *Beauveria spp.* to control *O. yothersi* in yerba mate leaves. Twenty-six isolates of *Beauveria spp.* were tested. Neubauer chamber counting was performed and spore suspensions were adjusted to 1.0×10^9 viable conidia/ml. The arenas consisted of yerba mate leaves with adaxial surface upwards and with the borders protected with damp cotton wool were made and placed on foam in Petri dishes. Each arena received 15 adult females. To each isolate 1ml of suspension 1.0×10^9 conidia/ml was applied with the Potter spray tower on five Petri dishes (75 mites/treatment). The control group received sterile distilled water + Tween 80 (0.01%). Mortality analyses were performed daily during seven days. Mortality was confirmed in a humid chamber. Total mortality of *O. yothersi* varied between 15 and 92% and confirmed mortality varied between 1 to 80%. The isolates that stood out in the first selection stage were UNIOESTE 53, 87 and 97, with total mortality above 70%, being the biological parameters compared. In evaluations of biological parameters, the isolates UNIOESTE 87 and 97 showed higher results if compared to UNIOESTE 53. The selected isolates were UNIOESTE 87 and 97, being indicated for further studies.

Keywords: Red mite, microbial control, fungal isolates.

3.1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. Aquifoliaceae) ocorre em regiões do Brasil, Argentina e Paraguai (DE OLIVEIRA & ROTTA, 1983). Apresenta grande importância ambiental e socioeconômica para a região Sul do Brasil. Rio Grande do Sul e Paraná são os maiores produtores no país, seguidos por Santa Catarina e Mato Grosso do Sul (IBGE, 2018b). As folhas são utilizadas na fabricação de bebidas, doces, cosméticos, e em estudos farmacológicos, sendo uma excelente opção para os agricultores (OLIVEIRA & WAQUIL, 2015).

Devido ao aumento da demanda por produção, o manejo da erva-mate vem sofrendo alterações que causam impactos à cultura, e o monocultivo está suprimindo as necessidades do mercado. Segundo Borges et al. (2003), ervais nativos apresentam menor incidência de pragas que os adensados, porém produzem menos que a monocultura, que por sua vez causa perda de biodiversidade e aumento de organismos ocorrendo na condição de pragas (ALVES et al. 2000; PENTEADO et al. 2000). Dentre os organismos que podem causar danos à erva-mate estão espécies de ácaros da família Tetranychidae, os quais causam perda de qualidade foliar e diminuição nos rendimentos da produção final (MARCHETTI & SIEBERT, 2005). O ácaro vermelho da erva-mate, *O. yothersi*, ataca a região adaxial das folhas da erva-mate (SILVA et al. 2001), causando escurecimento da folha, que ocorre do centro para suas laterais, sendo o dano conhecido como bronzeamento foliar, o ácaro causa ainda a queda das folhas, quando em elevadas populações (ALVES et al. 2004; MARCHETTI & SIEBERT, 2005).

No Brasil não é permitido o uso de insumos químicos, sendo assim, no país nenhum produto possui registro junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA para controle dos ácaros em erva-mate (AGROFIT, 2020). O uso de acaricidas sintéticos traz em si uma série de riscos, para a saúde e meio ambiente, além de ser comum o relato de populações de pragas resistentes aos princípios ativos utilizados, além de aumentar os custos da produção (GALLO et al. 2002; VILLEGAS et al. 2010).

Por outro lado, o desenvolvimento de alternativas para o controle de ácaros fitófagos da erva-mate possibilita uma produção de maior qualidade e segurança.

Padronizar a forma de produção amplia a utilização da planta trazendo maiores rendimentos para a região sul do país (FERLA et al. 2018).

Uma alternativa para controlar as populações de ácaros-praga é o controle biológico com fungos acaropatógenos (VEGA et al. 2012; SCHAPOVALOFF et al. 2015). Os gêneros *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* são os mais utilizados em estudos para controle de ácaros causadores de danos na agricultura, com destaque para a espécie *B. bassiana* (BARRETO et al. 2004; DOS SANTOS BARBOSA et al. 2018). A espécie é generalista com ampla gama de hospedeiros, podendo acometer mais de 700 espécies de artrópodes (ROHRLICH et al. 2018).

Especificamente com ácaros causadores de danos na erva mate, Martins et al. (2016) testaram isolados de *Beauveria* spp. contra *Polyphagotarsonemus latus*, e obtiveram resultados satisfatórios. Com relação ao ácaro vermelho da erva-mate, Oliveira et al. (2002) comprovaram a suscetibilidade de *O. yothersi* a isolados de *B. bassiana*. Posteriormente, em estudo feitos com *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *I. fumosorosea*, os isolados de *B. bassiana* causaram mortalidade superior a 70% em *O. yothersi* (OLIVEIRA et al. 2004).

Um isolado eficiente para o controle de ácaros deve apresentar atividade patogênica, virulência e elevada capacidade de produção de conídios (MANIANIA et al. 2008). Conhecer o fungo e seu hospedeiro é fundamental para determinar o possível risco do agente de controle para o ambiente e o seu potencial econômico. Para tanto, são necessárias análises laboratoriais para determinar a patogenicidade e a virulência do isolado (ROHRLICH et al. 2018).

A seleção de isolados é o primeiro passo no uso de fungos entomopatogênicos para o controle de pragas, devido à relação entre o patógeno e o hospedeiro e pela alta variabilidade genética que está entre os principais fatores que afetam a patogênese do fungo no hospedeiro. Sendo importante que cada isolado seja estudado de forma individual para estabelecimento da capacidade de controle do fitófago (XIAO et al. 2012). Assim, a seleção de isolados melhora as chances de sucesso do fungo entomopatogênico em posteriores aplicações em campo (XIAO et al. 2012).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi selecionar isolados do fungo acaropatógeno *Beauveria* sp. sobre *Oligonychus yothersi* em folhas de erva-mate,

em nível de laboratório.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A seleção dos isolados do fungo *Beauveria bassiana* foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste, *campus* Cascavel, PR. Os experimentos foram incubados em condições controladas (26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase).

3.2.1 Mudanças de erva-mate

As mudas de erva-mate, utilizadas nos experimentos foram obtidas de um produtor comercial e possuíam tamanho de aproximadamente 20 cm de altura. As plantas foram cultivadas em recipientes plásticos (700 ml de capacidade) contendo composto orgânico (húmus de minhoca com terra, carvão vegetal e casca de pinus moída), e foram mantidas em ambiente protegido com tela de polipropileno 50%, recebendo irrigação de 30 mL de água a cada dois dias. Anterior ao início de cada experimento, as folhas das plantas foram limpas com o auxílio de algodão umedecido com solução de hipoclorito de sódio (1%) e água destilada para evitar a presença de organismos que pudessem influenciar em algum resultado dos testes.

3.2.2 Criação estoque de *Oligonychus yothersi*

As criações de *Oligonychus yothersi* foram estabelecidas a partir de ácaros provenientes de plantas de erva-mate do erval comercial Erva-Mate Laranjeiras ($24^{\circ}58'05.2''S$ $53^{\circ}24'22.5''W$) da cidade de Cascavel – PR. Os ácaros foram coletados do campo e transportados em sacos plásticos até o laboratório para posterior triagem.

Os ácaros foram triados com a utilização de microscópio estereoscópico, e o auxílio de um pincel de ponta fina para facilitar o manuseio. Mantiveram-se os espécimes em caixas plásticas (Gerbox de 11 cm x 11 cm x 3 cm de altura), com o fundo recoberto por espuma de poliuretano umedecida com água destilada. Sobre a

espuma foram dispostas folhas de erva-mate envoltas por algodão para evitar a fuga dos ácaros e com a face adaxial para cima onde foram mantidos os ácaros. Em cada folha de erva-mate foram colocadas aproximadamente 20 fêmeas e cinco machos para estabelecimento e manutenção das criações. As caixas de criação estoque foram mantidas em bandejas retangulares de plástico (38 × 27 cm), e permaneceram em sala climatizada (26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase). As folhas eram substituídas à medida que se tornavam escuras.

3.2.3 Seleção dos isolados de fungo

3.2.3.1 Obtenção e manutenção dos isolados fúngicos

Para este estudo foi acessada a coleção de isolados de fungos entomopatogênicos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola da Universidade do Oeste do Paraná, *Campus Cascavel* – PR, onde os isolados fúngicos são mantidos na forma de conídios puros, provenientes de cultivos monospóricos em freezer a -80 °C. Para a seleção foram testados 26 isolados de *Beauveria spp.* (Tabela 6).

Tabela 6. Isolados de *Beauveria spp.* utilizados na seleção, respectivos hospedeiros e local de origem.

ISOLADO	ESPÉCIE
UNIOESTE 01	<i>Beauveria Bassiana</i>
UNIOESTE 02	<i>Beauveria sp.</i>
UNIOESTE 05	<i>Beauveria sp.</i>
UNIOESTE 25	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 26	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 37	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 39	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 44	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 46	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 53	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 60	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 62	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 64	<i>B. bassiana</i>

UNIOESTE 65	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 69	<i>Beauveria sp.</i>
UNIOESTE 78	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 83	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 87	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 88	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 90	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 91	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 94	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 95	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 97	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 98	<i>B. bassiana</i>
UNIOESTE 99	<i>B. bassiana</i>

Os isolados foram multiplicados em placas de Petri contendo meio de cultura para produção de conídios (ágar 20g, dextrose 10g, extrato de levedura 5g, mistura de sais 4,6g e água destilada 1000ml) adaptado de Alves (1998), incubados em câmara climatizada (26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase) por 10 dias para conidiogênese (Figura 7). Os conídios obtidos foram coletados, raspando-se a superfície do meio de cultura e foram transferidos para tubos de vidro esterilizados fechados com filme PVC, sendo mantidos a temperatura de -10°C para posterior utilização nos bioensaios (ALVES, 1998).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 7. Frasco de vidro contendo meio de cultura ME (A), placas de Petri com ME durante o processo de inoculação dos isolados de *Beauveria spp.* (B), placas de Petri com isolados de fungos produzidos, prontos para raspagem e posterior armazenamento até o momento da utilização nos bioensaios.

3.2.3.2 Seleção dos isolados de fungos entomopatogênicos

Previamente aos bioensaios, a viabilidade dos conídios de cada um dos isolados foi avaliada segundo Oliveira et al. (2015). Para isso, 300 μL da suspensão de conídios de cada isolado ($1,0 \times 10^6$ conídios/ml) foram inoculados em quatro placas (tipo Rodac) para cada isolado, contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). As placas foram incubadas pelo período de 18 a 24h em 26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$, 12h de fotofase, e as contagens dos conídios germinados e não germinados foram realizadas com o auxílio de

microscópio de luz, onde somente foram considerados germinados os conídios que apresentaram o tubo germinativo evidente.

A seleção foi realizada com base no estudo realizado por Martins et al. (2016). Para a realização dos experimentos, após contagem em câmara de Neubauer, as suspensões foram ajustadas em $1,0 \times 10^9$ conídios viáveis/ml (Figura 8).

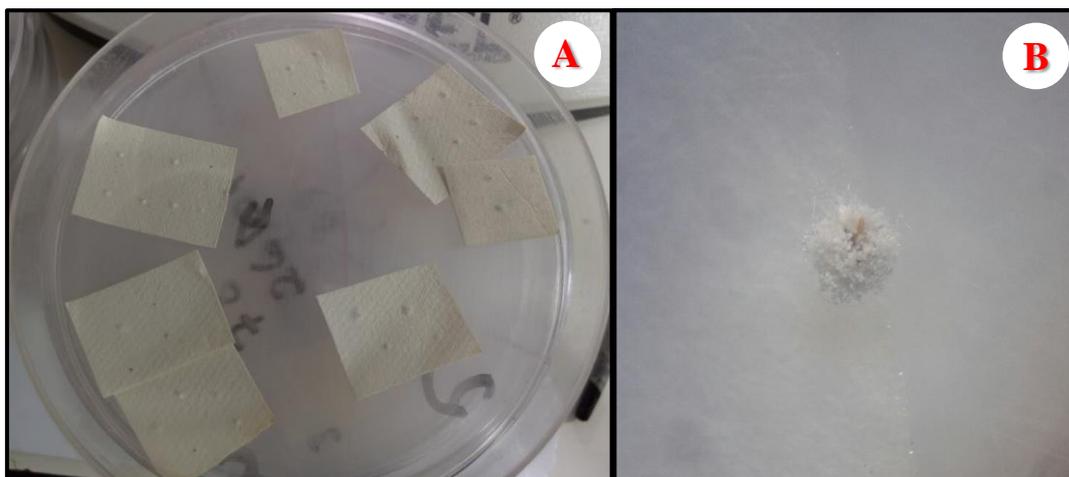
Para os bioensaios com ácaros, foram preparadas arenas em placas de Petri com o fundo coberto por espuma e com folhas de erva-mate com a região adaxial para cima, envoltas por algodão umedecido. As arenas foram previamente infestadas com 15 fêmeas adultas. Em seguida, para cada isolado, 1mL da suspensão 1×10^9 conídios/ml foi pulverizado em Torre de Potter ($0,703 \text{ kgf/cm}^3$) sobre um conjunto de 5 folhas de erva-mate (repetições), totalizando 75 ácaros/tratamento (Figura 8). Na testemunha, os ácaros foram pulverizados com água destilada estéril + Tween[®] 80 (0,01%) (Figura 8). Em seguida, as arenas foram transferidas para bandejas plásticas retangulares, incubando-se em sala climatizada ($26 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, UR = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 8. Frascos de vidro com suspensões de conídios dos isolados de *Beauveria spp.* (A), arenas utilizadas para as pulverizações dos isolados fúngicos em fêmeas adultas de *O. yothersi* (B), pulverização em Torre de Potter dos isolados nas arenas com os ácaros (C)

Observações diárias foram realizadas durante sete dias, para análise de mortalidade, com o auxílio de microscópio estereoscópico (aumento de 250×). Os indivíduos mortos (que não responderam ao toque de pincel) foram coletados e imersos durante 10 segundos em álcool 70% e subsequentemente por 10 segundos em água destilada. Em seguida, foram transferidos para câmara úmida para confirmar a mortalidade ocasionada pelo fungo. A câmara úmida foi constituída de papel filtro umedecido dentro de placas de Petri, as placas foram depositadas sobre espuma umedecida com água destilada dentro de um recipiente plástico fechado. Foram considerados mortos pelo fungo os ácaros em que se constatou a presença de estruturas dos fungos sobre os indivíduos mortos (Figura 9).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 9. Placa de Petri com fêmea de *O. yothersi* durante processo de confirmação (A), ácaro com morte confirmada por isolado de *Beauveria spp.* (B).

Os isolados que causaram mortalidade mínima de 70% foram selecionados para a etapa seguinte, na qual foram comparados entre si, com base na avaliação dos parâmetros biológicos: tamanho da colônia (crescimento

vegetativo), produção de conídios em placas de Petri e em arroz (UGINE et al. 2013), com base nos trabalhos de Leite et al. (2011) e Martins et al. (2016).

3.2.4 COMPARAÇÃO DOS ISOLADOS SELECIONADOS

3.2.4.1 Crescimento vegetativo de *Beauveria spp.*

Para a avaliação do crescimento vegetativo foram preparadas cinco placas de Petri com meio de BDA para cada um dos isolados selecionados. O fungo foi inoculado em três pontos na superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas a temperatura de 26 ± 1 °C, UR de $60 \pm 10\%$, fotofase de 12h, durante sete dias. Após este período, foram tomadas duas medidas perpendiculares em duas colônias de cada uma das placas, para obter o diâmetro médio delas e o cálculo da sua área (Figura 10).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 10. Medições perpendiculares em colônias de *Beauveria spp.* para obtenção do diâmetro médio e o cálculo das áreas (A).

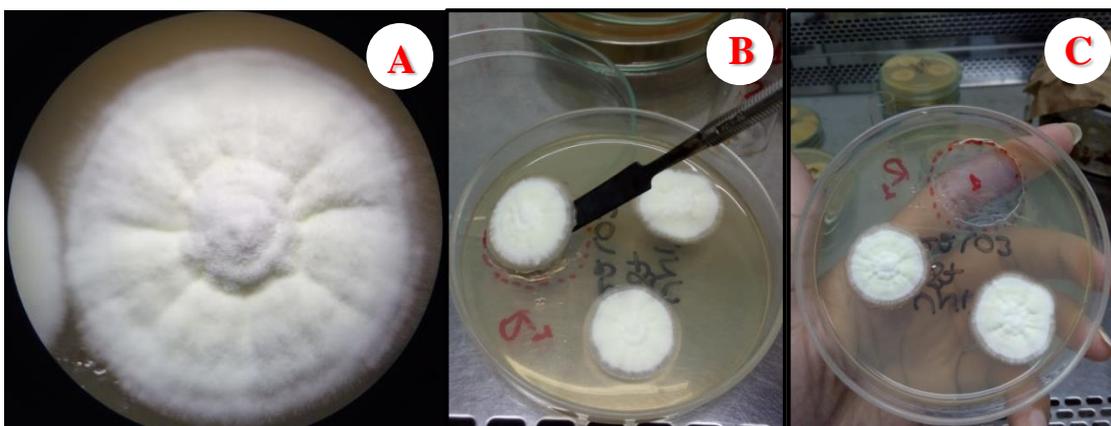
3.2.4.2 Produção de conídios de *Beauveria spp.* por colônia

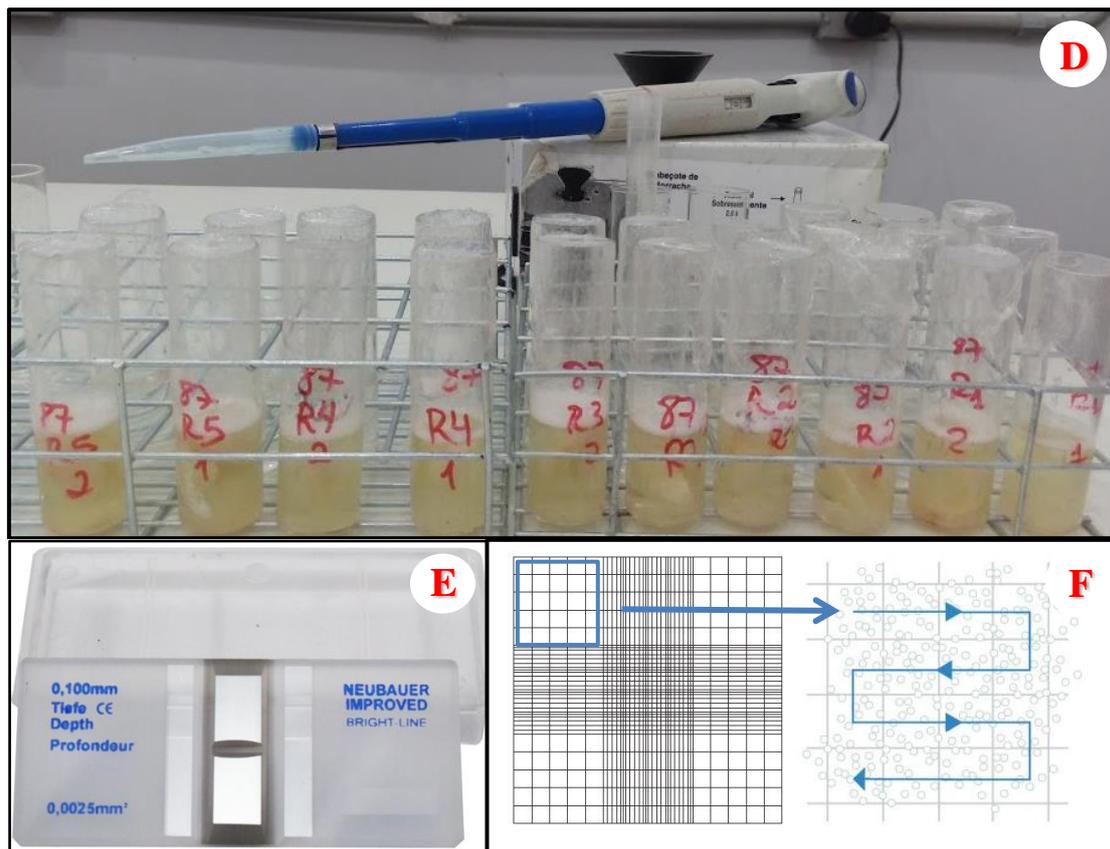
Depois de avaliado o crescimento vegetativo, as duas colônias de cada placa, que apresentaram crescimento homogêneo e uniforme foram selecionadas para avaliar a produção de conídios.

As colônias foram recortadas em seus limites de crescimento com espátula previamente flambada e resfriada, e individualizadas em tubos de vidro estéril, onde foram adicionados 5mL de água destilada com Tween[®] 80 (0,01%). A colônia foi lavada com auxílio de um pincel, o tubo foi então completado com mais 5 ml da solução de água destilada com Tween[®] 80 (0,01%). Em seguida, o tubo foi agitado em um aparelho vortex visando a desagregação do patógeno e sua distribuição homogênea (Figura 11).

Foram feitas diluições seriadas com solução de água destilada e Tween[®] 80 (0,01%) e realizadas as contagens dos conídios em câmara de Neubauer (Figura 11).

Para estimar a produção de conídios por cm² a produção total da colônia foi dividida pela área da mesma.





Fonte: Arquivo pessoal

Figura 11. Colônia de *Beauveria spp.* (A), recorte da colônia em seus limites de crescimento com espátula previamente flambada e refrigerada (B), colônia recortada para posterior contagem de conídios (C), tubos de vidro estéril com a solução de colônias e água destilada com Tween[®] 80 (0,01%) (D). Câmara de Neubauer (E), campo de visão da câmara de Neubauer em microscópio e esquema de contagem (F).

3.2.4.3 Produção de conídios de *Beauveria spp.* por fermentação sólida em arroz parboilizado

A produção do fungo em arroz comercial parboilizado foi realizada conforme Leite et al. (2011). O arroz foi submerso em água fria durante 50 minutos e transferido para peneira para retirada do excesso de água. Em seguida, foram divididas porções de 200 g que transferidas para sacos de polipropileno, sendo cinco sacos para cada isolado. Os sacos foram fechados e autoclavados durante 30 minutos, a 1atm e 120 °C.

Após resfriamento (aproximadamente 25 °C), foram adicionados 10ml de suspensão de conídios previamente produzidos ($1,0 \times 10^7$ conídios/ml) de cada

um dos isolados selecionados, utilizando uma seringa estéril. Os sacos foram incubados durante sete dias (26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$ e 12h de fotofase). Diariamente, os sacos plásticos eram revolvidos manualmente evitando a formação de grumos. Após setes dias, o conteúdo de cada saco foi transferido para bandejas retangulares que foram mantidas por mais sete dias em 26 ± 1 °C, UR = $60 \pm 10\%$, fotofase de 12h para conclusão do ciclo de conidiogênese, sendo as amostras homogeneizadas quando necessário para evitar formação de grumos. Ao final dessa etapa, foram retiradas amostras de 100 g de arroz de cada bandeja e acondicionados em frascos de vidro estéril e mantidos em uma câmara desumidificadora para secagem do arroz.

Em seguida, o arroz foi peneirado (peneira *mesh* 32) para separação dos conídios e pesagem. Após a pesagem, os conídios foram armazenados em freezer a -80 °C até a utilização nas avaliações. Através deste processo de produção por fermentação sólida foi possível estimar o rendimento de conídios/kg de arroz.

A concentração de conídios foi analisada em duas etapas diferentes, antes da secagem, onde 1g de cada bandeja foi amostrado aleatoriamente e acondicionados em tubo de vidro esterilizado. Em seguida, em cada tubo foram adicionados 10ml de água destilada + Tween[®] 80 (0,01%) agitados em aparelho vortex para separação dos conídios. Fez-se a contagem dos conídios em câmara de Neubauer, avaliando assim a produtividade de conídios/g de arroz de acordo com Alves (1998).

Também se avaliou a pureza do ingrediente ativo, ou seja, foi verificada a quantidade de conídios presentes no material peneirado. Para essa avaliação 0,1 g do pó peneirado foi suspenso em 10 ml de água destilada + Tween[®] 80 (0,01%). Foi realizada diluição seriada para a contagem dos conídios, seguindo o mesmo processo descrito anteriormente.

3.2.5. Análise de dados

3.2.5.1 Seleção de isolados de *Beauveria spp.* e comparação dos isolados selecionados

Os dados de mortalidade total e confirmada ao foram submetidos à análise estatística descritiva e graficamente, pelo programa Microsoft Excel.

Os dados relativos ao tamanho da colônia, produtividade da colônia e produção de conídios em arroz parboilizado foram analisados atendendo aos pressupostos de aleatoriedade e independência.

A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias foi testada utilizando-se o teste de Levene's. Atendidos aos pressupostos da normalidade e homogeneidade (Rendimento de conídios peneirados/kg de arroz), as médias foram submetidas à análise da variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Holm-Sidak's. Em caso de atendimento ao pressuposto de distribuição gaussiana, mas não atendimento ao pressuposto de homogeneidade das variâncias (tamanho da colônia e produção de conídio peneirado) manteve-se a comparação por ANOVA de uma via seguido de teste de Holm-Sidak's.

Dados fora da normalidade (produtividade de conídios por colônia e produção de conídio por grama de arroz) foram submetidos à teste de Kruskal-Wallis seguido de múltiplas comparações por teste de Dunnet. Todos os testes foram conduzidos com nível de significância de $p < 0,05$ no software Graphpad PRISMA 8.02 (GraphPad Prism version 8.0.2 for Windows).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Seleção dos isolados de fungo *Beauveria spp.*

A mortalidade total de *Oligonychus yothersi* variou entre 15 e 92% dentre os 26 isolados de *Beauveria spp.* testados. Já a mortalidade confirmada teve variação entre 1 e 80%, de acordo com o isolado testado.

Assim os isolados que se destacaram nesta primeira etapa de avaliação, levando-se em consideração a mortalidade total e confirmada, foram o UNIOESTE 53, UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97, com os quais se alcançou mortalidade total acima de 70%, sendo estes selecionados para a avaliação

dos parâmetros biológicos.

3.3.2 Comparação dos isolados selecionados

Houve diferença no crescimento vegetativo entre os isolados selecionados, sendo que o tamanho das colônias foi 6,1 cm² para isolado UNIOESTE 87 e 1,9 cm² e 4,2 cm², respectivamente para os isolados UNIOESTE 53 e o UNIOESTE 97 (Tabela 7).

De maneira semelhante, foi verificado que a média de produção de conídios por colônia é significativamente maior para o isolado UNIOESTE 87 sendo, $25,8 \times 10^8$ enquanto que, o isolado UNIOESTE 53 apresentou o menor valor, $4,7 \times 10^8$ e UNIOESTE 97, $7,0 \times 10^8$, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 7).

A produtividade de conídios/g de arroz foi significativamente maior para UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97, ambos com $3,9 \times 10^9$, enquanto o isolado UNIOESTE 53 apresentou a menor produção, $1,4 \times 10^9$ (Tabela 7).

Com relação ao rendimento de conídios (g)/kg de arroz, os maiores valores foram obtidos no isolado UNIOESTE 97 (16,9 g/kg de arroz) enquanto que, os outros isolados não apresentaram diferença significativa, sendo 10,1 g/kg de arroz para o isolado UNIOESTE 53 e 12,7 g/kg para UNIOESTE 87 (Tabela 7).

Em relação à quantidade de conídios no substrato peneirado (arroz), o isolado UNIOESTE 53 apresentou média de $7,8 \times 10^9$ conídios/100 g de arroz, enquanto os demais isolados não diferiram entre si apresentando valores maiores, sendo $33,5 \times 10^9$ conídios/100 g de arroz (UNIOESTE 87) e $33,3 \times 10^9$ conídios/100 g de arroz (UNIOESTE 97) (Tabela 7).

Tabela 7. Parâmetros biológicos (média ± EP) de *Beauveria spp.* (área da colônia (cm²), produção de conídios/colônia (10⁸), produtividade de conídio/g de arroz (10⁹), rendimento de conídio (g)/kg de arroz, produção de conídio do pó peneirado) dos isolados UNIOESTE 53, UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97.

	Isolados		
	UNIOESTE 53	UNIOESTE 87	UNIOESTE 97
Área da colônia (cm ²)	1,9±0,26 c	6,1±0,26 a	4,2±1,85 b
Conídios/colônia (10 ⁸)	4,7±0,23 b	25,8±4,23 a	7,0±0,70 b
Conídio/g de arroz (10 ⁹)	1,4±0,11 b	3,9±0,40 a	3,9±0,25 a
Rendimento (conídio (g)/kg de arroz)	10,1±1,33 b	12,7±1,03 b	16,9±0,92 a
Produção de conídios/100g arroz (10 ⁹)	7,8±1,61 b	33,5±0,29 a	33,3±0,14 a

Médias (± SEM) seguidos da mesma letra na linha não diferem entre si pelos testes de Holm-Sidak's (área da colônia, produção de conídio do pó peneirado e rendimento de conídio (g)/Kg de arroz) e teste de Kruskal-wallis seguido de teste Dunn (produção de conídio/colônia e produtividade de conídio/g de arroz) ao nível de significância de $p < 0,05$.

3.3.3 DISCUSSÃO

O fungo *Beauveria bassiana* vem sendo estudado por diversos autores para o controle de diferentes espécies de ácaros tetranquídeos, demonstrando que é um fungo acaropatogênico com potencial para uso no controle aplicado (TAMAI, 1999; OLIVEIRA et al. 2002; 2004; BARRETO et al. 2004; DOS SANTOS BARBOSA et al. 2018; PEREIRA, et al. 2019).

Especificamente em relação a *O. yothersi*, sua suscetibilidade ao fungo *B. bassiana* foi comprovada anteriormente por Oliveira et al. (2002; 2004) ao testarem diferentes isolados do fungo. Para os autores, os valores de mortalidade total e confirmada foram de 98% e 75%, respectivamente (Oliveira et al. 2002) e mortalidades superiores a 70% no trabalho de Oliveira et al. (2004). Já no presente estudo, os maiores valores de mortalidade total e confirmada foram de 92 e 80%, respectivamente.

As variações encontradas entre os valores de mortalidades total e confirmada dos isolados são comuns e podem ser ocasionadas por diversas razões. Em determinadas situações o fungo não chega a matar o ácaro, porém pode causar lesões ou outros danos que podem ser portas de entrada para outros patógenos, contribuindo indiretamente para a morte do indivíduo (ALVES, 1998).

Também, nem sempre o fungo encontra condições adequadas para completar seu ciclo de vida no hospedeiro e acaba não desenvolvendo as estruturas características que tornam possível a confirmação da causa da morte do hospedeiro (HAJEK & ST. LEGER, 1994; ALVES, 1998).

Em estudos desenvolvidos por Bugeme et al. (2008), a temperatura de incubação após a aplicação pode interferir além da fisiologia do fungo e do hospedeiro, também na capacidade do fungo de infectar o hospedeiro, explicando também as variações nos resultados entre os estudos.

A mortalidade total de *O. yothersi* no presente estudo apresentou variação de 15 a 92%, já a mortalidade confirmada variou de 1 a 80% entre os isolados de *Beauveria spp.* Variações nos resultados são encontradas quando se compara a mortalidade de diferentes espécies de ácaros submetidos ao fungo *Beauveria spp.*, como observado por Tamai (1999) com *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), por Barreto et al. (2004) com *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938) (Acari: Tetranychidae) e posteriormente por Martins et al. (2016) com o ácaro-branco, *P. latus*,

Chouvenec et al. (2009) demonstraram que o sistema de defesa do hospedeiro nos artrópodes por eles testados é eficaz na eliminação da infecção por fungos e pode afetar a ação dos fungos sobre o hospedeiro. Além disso, os autores observaram uma maior eficiência dos isolados em termos de tempo reduzido para completar o ciclo de infecção (adesão ao hospedeiro e colonização e morte do hospedeiro), o que também pode ter ocorrido ocasionando as variações encontradas entre os isolados estudados neste e em outros trabalhos.

O isolado UNIOESTE 53 de *Beauveria spp.* que se destacou na seleção, também se mostrou com potencial de controle em estudo realizado por (Martins et al. 2016) causando mortalidade de total de 70% do ácaro branco, *P. latus*. Além da atividade acaricida, os autores obtiveram para o isolado UNIOESTE 53, diâmetro médio da colônia próximo de 2 cm², semelhante as médias encontradas no presente estudo com média de 1,9 cm². Estes dados demonstram a importância de serem realizados mais estudos para a possível comprovação do potencial deste isolado no controle de ácaros praga da

agricultura.

Tanto os valores obtidos pelos autores, quanto os encontrados no presente estudo foram menores que os diâmetros médios observados por Rohde et al. (2006) que variaram de 2,9 a 4,3 cm² com outros isolados. Porém, os diâmetros médios das colônias dos isolados UNIOESTE 87 e 97 deste estudo obtiveram valores superiores aos encontrados tanto pelos autores, sendo 6,1 cm² para UNIOESTE 87 e 4,2 cm² para UNIOESTE 97. Valores próximos aos observados neste estudo foram obtidos por Batista Filho et al. (2001) com um isolado fúngico de *B. bassiana* ao qual obteve 4,3 cm² e superior a Formentini et al. (2015) que apresentou um diâmetro de 3,2 cm².

As pequenas variações encontradas entre os estudos podem ser ocasionadas por diferenças no fotoperíodo, nas temperaturas de incubação, umidade relativa, tempo de incubação, tempo de armazenamento dos isolados, na espessura do meio de cultura que foi utilizado ou ainda na quantidade de conídios presentes na agulha no momento de inoculação no meio de cultura (POTRICH et al. 2006). Mesmo que os fatores sejam padronizados e controlados, pequenas variações podem ter interferência significativa sobre os resultados obtidos nas avaliações (POTRICH et al. 2006).

Em relação à produção de conídios/colônia, Rohde et al. (2006), obtiveram em dois isolados de *B. bassiana*, a quantidade de $3,9 \times 10^8$ e $5,7 \times 10^8$ próximos aos valores obtidos na avaliação do presente estudo com o isolado UNIOESTE 53 ($4,7 \times 10^8$). Formentini et al. (2015), com um isolado de *B. bassiana* obteve produção/colônia de 13×10^7 conídios, assim como, Potrich et al. (2006) que obtiveram $4,8 \times 10^8$ conídios/colônia também com isolado de *B. bassiana*, ambos valores menores do que o apresentado neste estudo com UNIOESTE 87. Ainda, no presente estudo foi observado que tanto o maior valor de conídios/colônia quanto o maior diâmetro da colônia foram obtidos por UNIOESTE 87, demonstrando que o tamanho da colônia interfere na quantidade de conídios presentes nela. Semelhantemente, Potrich et al. (2006) constatou que a variação da quantidade de conídios/colônia obtidas em seu estudo coincidiu com a medida do diâmetro médio das mesmas, de forma que nas maiores colônias a concentração de conídios sempre foi maior.

Sobre a produtividade de conídios/g de arroz, os isolados de *B. bassiana* UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97 apresentaram $3,9 \times 10^9$ conídios/g de arroz, valores superiores aos encontrados por Rohde et al. (2006) que obteve $8,3 \times 10^8$ conídios/g de arroz com um isolado de *Beauveria sp.* e por Formentini et al. (2015) que obtiveram os maiores valores de produção de $4,7 \times 10^7$ com um isolado de *B. bassiana*.

A ampla variabilidade genética dos fungos entomopatogênicos faz com que sua atividade seja variável sobre diferentes organismos, e como consequência apresentam uma maior especificidade (ALVES, 1998).

As diferenças apresentadas entre os diferentes isolados neste trabalho e as variações observadas quando comparados estes valores com outros trabalhos podem ser explicadas por possíveis diferenças no substrato, no método de produção empregado durante os experimentos ou ainda pode ser causado pela variabilidade genética dos isolados (POTRICH et al. 2006; ROHDE et al. 2006). A temperatura geralmente é um fator limitante para a ocorrência da infecção fúngica (GILBERT & GILL, 2010). Segundo Bugeme et al. (2008), diferenças na temperatura no momento da incubação pode influenciar nos resultados tanto para a germinação dos isolados quanto para a virulência no hospedeiro.

Assim sendo, além da especificidade de virulência de cada isolado sobre os hospedeiros (ALVES, 1998), possíveis diferenças entre as temperaturas de incubação dos trabalhos analisados podem ser a causa das variações nos valores encontrados em outros estudos, se comparados ao presente trabalho, tanto nas avaliações dos parâmetros biológicos quanto na virulência dos isolados (BUGEME et al. 2008).

Somente um parâmetro biológico não é suficiente para comprovar a eficiência de um isolado, demonstrando que dentre os três isolados que tiveram os parâmetros biológicos testados, UNIOESTE 53 mostrou menor potencial para a continuidade de estudos visando o controle de *O. yothersi*. Já UNIOESTE 87 apresentou maiores valores nas avaliações demonstrando ser o isolado mais indicado para utilização em estudos que visam o controle do ácaro vermelho da erva-mate. De acordo com Petlamul e Prasertsan (2012), a

escolha dos isolados com maior potencial de controle é a base para sua utilização em estudos subsequentes, programas de manejo de pragas, ou ainda em possível otimização genética.

Esses resultados juntamente com estudos desenvolvidos nos últimos anos demonstram os desafios envolvidos no uso de patógenos de ação lenta para o controle de pragas que possuem rápido crescimento populacional e a importância de integrar esses agentes programas de manejo integrado de pragas (UGINE et al. 2013). Por essa razão, UGINE et al. (2013) reforçam que biopesticidas à base de *Beauveria spp.* devem ser vistos não como agentes autônomos de controle, mas como componentes de programas de manejo integrado de pragas.

3.4 CONCLUSÃO

Os isolados selecionados por apresentarem maiores mortalidades total e confirmada e melhores valores de parâmetros biológicos foram UNIOESTE 87 e UNIOESTE 97, sendo indicados para posteriores estudos em casa de vegetação e campo.

3.5 REFERÊNCIAS

AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. 2020. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 20 jan. 2020.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. **Controle microbiano de insetos**, v. 2, p. 289-381, 1998.

ALVES, L.F.A.; SANTANA, D.L.Q.; NEVES, P.M.O.J.; OLIVEIRA, R.C. Ácaros fitófagos da erva-mate: situação atual e perspectivas de controle. In Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA MATE, 2.; REUNIAO TECNICA DA ERVA MATE, 3., 2000, Encantado. Anais. Porto Alegre: Comissão dos Organizadores/Universidade do Rio Grande do Sul/Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, p. 39-42, 2000.

ALVES, L.F.A.; SPONGOSKI, S.; VIEIRA, F.D.S.; MORAES, G.D. Biologia e

danos de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) em *Ilex paraguariensis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 2, p. 211-214, 2004.

BARRETO, R.S.; MARQUES, E.J.; GONDIM JR, M.G.C.; OLIVEIRA, J.V. D. Seleção de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle do ácaro *Mononychellus tanajoa* (Bondar). **Scientia agrícola**, v. 61, n. 6, p. 659-664, 2004.

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

BORGES, L.R.; LÁZZARI, S.M.N.; LÁZZARI, F.A. Comparação dos sistemas de cultivo nativo e adensado de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil., quanto à ocorrência e flutuação populacional de insetos. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 4, p. 563-568, 2003.

BUGEME, D.M.; MANIANIA, N.K.; KNAPP, M.; BOGA, H.I. Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. **Diseases of Mites and Ticks** pp. 275-285. Springer, Dordrecht. 2008.

CHOUVENC, T.; SU, N. Y.; ROBERT, A. Cellular encapsulation in the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera), against infection by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 3, p. 234-241, 2009.

DE OLIVEIRA, Y.M.M.; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10., 1983, Curitiba. Silvicultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*): anais. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1985. p. 17-36, 1983.

DOS SANTOS BARBOSA, T.; DE ANDRADE, D.J.; POLANCZYK, R.A.; DUARTE, R.T. Susceptibility of *Tetranychus ogmophallos* (Acari: Tetranychidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Florida Entomologist**, p. 249-253, 2018.

FORMENTINI, M.A.; ALVES, L.F.A.; SCHAPOVALOFF, M.E.; MAMPRIM, A.P.; BONINI, A.K.; DA SILVA PINTO, F.G. Characterization and activity of entomopathogenic fungi isolates against "Paraguay tea ampul" (*Gyropsylla spegazziniana*) (Lizer & Trelles) (Hemiptera: psyllidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 3553-3566, 2015.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. D. **Entomologia agrícola** (No. 632.7 E61e). Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. 2002.

GILBERT, L. I.; GILL, S. S. (Eds.). **Insect control: biological and synthetic agents**. Academic Press. 2010.

HAJEK, A.E.; ST LEGER, R.J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual review of entomology**, v. 39, n. 1, p. 293-322. 1994.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo agro, 2017. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76291. Acesso em: 26 ago. 2018b.

LEITE, M.S.P.; IEDE, E.T.; PENTEADO, S.D.R.C; ZALESKI, S.R.M.; CAMARGO, J.M.M.; RIBEIRO, R.D. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Hedypathes betulinus* e avaliação da persistência. *Floresta*, v. 41, n. 3, 2011.

MANIANIA, N. K.; BUGEME, D. M.; WEKESA, V. W.; DELALIBERA, I.; KNAPP, M. Role of entomopathogenic fungi in the control of *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), pests of horticultural crops. In **Diseases of Mites and Ticks** (pp. 259-274). Springer, Dordrecht. 2008.

MARCHETTI, M.M.; SIEBERT, J.C. Acarofauna (Acari) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.: AQUIFOLIACEAE) no estado do Rio Grande do Sul. **Biociências**, v. 13, n. 2, p. 133-142, 2005.

MARTINS, C.C.; ALVES, L.F.A.; MAMPRIM, A.P.; SOUZA, L.P.A. Selection and characterization of *Beauveria spp.* isolates to control the broad mite *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 3, p. 629-637, 2016.

OLIVEIRA, R.C. de; ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.O.J. Susceptibility of *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) to the fungus *Beauveria bassiana*. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 187-189, 2002.

OLIVEIRA, R.C.; NEVES, P.M.; ALVES, L.F.A. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na cultura de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). **Neotropical entomology**, 2004.

OLIVEIRA, S.V.D.; WAQUIL, P.D. Dynamics of production and commercialization of yerba mate in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 750-756, 2015.

PENTEADO, S.; IEDE, E.T.; LEITE, M.S.P. Pragas da erva-mate: perspectivas de controle. In: **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIAO TECNICA DA ERVA MATE, 3., 2000, Encantado. Anais. Porto Alegre:

Comissão dos Organizadores/Universidade do Rio Grande do Sul/Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, p. 27-38, 2000.

PEREIRA, S.L.; REIS, T.C.; DE OLIVEIRA, I.T.; FERREIRA, E.A.; SOARES, M.A.; VIDAL RIBEIRO, V.H. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* fungi to *Tetranychus ludeni* (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

PETLAMUL, W.; PRASERTSAN, P. Evaluation of strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the basis of their virulence, germination rate, conidia production, radial growth and enzyme activity. **Mycobiology**, v. 40, n. 2, p. 111-116. 2012

POTRICH, M.; ALVES, L.; MERTZ, N.; SILVA, E. Avaliação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **BioAssay**, 1. 2006.

ROHDE, C.; ALVES, L.F.; NEVES, P.M.; ALVES, S.B.; DA SILVA, E.R.; DE ALMEIDA, J.E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 2, p. 231-240. 2006.

ROHRLICH, C.; MERLE, I.; HASSANI, I. M.; VERGER, M.; ZUIN, M.; BESSE, S.; ROBÈNE, I.; NIBOUCHE, S.; COSTET, L. Variation in physiological host range in three strains of two species of the entomopathogenic fungus *Beauveria*. **PloS one**, v. 13, n. 7, 2018.

SCHAPOVALOFF, M.E.; ALVES, L.F.A.; URRUTIA, M.I.; LASTRA, C.CL. Ocorrência natural de hongos entomopatógenos en suelos cultivados con yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) en Misiones, Argentina. **Revista argentina de microbiología**, v. 47, n. 2, p. 138-142, 2015.

SILVA, E.R.L.; GASSEN, M. H.; ALVES, L.F.A. Estudo do comportamento do ácaro vermelho *Oligonychus yothersi* (Acari, Tetranychidae) em folhas de erva-mate. **Sci. Agr. Paran**, v. 1, p. 11-20, 2001.

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

UGINE, T.A.; WRAIGHT, S.P.; SANDERSON, J.P. Microbial biological control potential of three strains of *Beauveria bassiana* sl against greenhouse shore fly *Scatella tenuicosta*: Assessment of virulence, mass production capacity, and effects on shore fly reproduction. **Biological control**. V.65, n. 3, p. 348-356. 2013.

VEGA, F.E.; MEYLING, N.; LUANGSA-ARD, J.; BLACKWELL, M. Fungal

Entomopathogens. **Insect Pathology**, p.171-220, 2012.

VILLEGAS, E.S.E.; RODRÍGUEZ, M.J.C.; ANAYA, R.S., SÁNCHEZ, A.H., HERNÁNDEZ, M.J.; BUJANOS, M.R. Resistencia a acaricidas en *Tetranychus urticae* (Koch) asociada al cultivo de fresa en Zamora, Michoacán, México. **Agrociencia**, v. 44, n. 1, p. 75-81, 2010.

XIAO, G.; YING, S.H.; ZHENG, P.; WANG, Z.L.; ZHANG, S.; XIE, X.Q.; SHANG, Y.; LEGER, R.J.S.T.; ZHAO, G.P.; WANG, C.; FENG, M.G., Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports**, v. 2, p. 1-10. 2012.