

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

Claudecir Castilho Martins

Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)

CASCADEL-PR

Agosto/2014

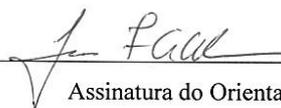
Claudecir Castilho Martins

Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)

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, como requisito para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais.

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Prof.Dr. Luis Francisco Angeli Alves



Assinatura do Orientador (a):

CASCAVEL-PR

Agosto/2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M386s Martins, Claudécir Castilho
Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) / Claudécir Castilho Martins.— Cascavel, 2014. 53 p.

Orientador: Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais
1. Produção vegetal 2. Controle biológico. 3. Fungos entopatogênicos. 4. Acarologia agrícola. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

CDD 21.ed. 632.96

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejo – CRB 9ª/965

FOLHA DE APROVAÇÃO

Claudecir Castilho Martins

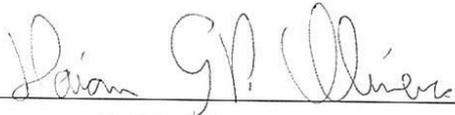
Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais - Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)



Prof. Dr. Daian Guilherme Pinto de Oliveira

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Docente externo)



Prof. Dr. Fabiana Gisele da Silva Pinto

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aprovada em: 08 de agosto de 2014

Sala 56, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel - PR

“Persistência e dedicação, mãe e pai da conquista”

Aos que ao meu lado trilharam o caminho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Em minha monografia de conclusão de curso ao final dos agradecimentos escrevi “Que venham mais trabalhos, dissertação, tese”, falta apenas um passo dos que objetivei naquele momento. Mas, assim como em outrora, e lá se vão 10 anos, não teria conseguido nada sem ajuda, sempre achei importante retribuir aos que nos querem e, nos fazem bem, mesmo que seja da forma mais singela, o meu simples, muito obrigado!

A Deus, pois acredito fielmente que nada é possível sem seu consentimento.

A minha família, pelo carinho, apoio, suporte e estrutura, que me deixaram confiante e fortalecido para trilhar este caminho Mãe, Pai, Adri, Déia, amo vocês.

As cinco pessoinhas mais importantes da minha vida (repiro a frase), por quem acordo todos os dias, por quem luto, com quem sonho, por quem choro e por quem abro meu sorriso mais sincero, é impossível descrever meu amor por vocês Pedro Mamprim Martins, Rafael Martins, Tábita Sofia Gehlen, Alana Heloisa Gehlen, e meu afilhadinho (a) que ainda esta por vir.

Ao meu Orientador, amigo e conselheiro, meu obrigado, não é só pela orientação neste trabalho, mas pela orientação na vida, foi um privilégio compartilhar do conhecimento deste exemplo de profissional e amante da pesquisa, Prof. Dr. Luis Francisco A. Alves, muito obrigado.

A uma pessoa que sempre esteve ao meu lado, nas horas boas e ruins, tanto deste trabalho quanto da minha vida, sem esta pessoa eu não teria entrado no mestrado, minha incentivadora e a quem eu devo muito mais do que posso agradecer, Ana Paula Mamprim.

Ao CNP pelo apoio financeiro e concessão de bolsa, sem a qual seria impossível a conclusão desta etapa tão importante em minha vida.

Meus amigos pessoais, e de laboratório, sem citar nomes e correr o risco de cometer injustiça esquecendo alguém, mas uma pessoa em especial eu tenho que agradecer, Andréia Kusumota Bonini, a nossa querida “japinha faz tudo”, uma das pessoas mais especiais que tive o prazer de conviver...”Eita Lab de Biotec” que vou sentir saudade, de todos (as) sem exceções.

Ao corpo docente da Unioeste, tanto da graduação quanto do mestrado, pessoas que contribuíram com minha formação.

A Unioeste, local onde passei quase metade de minha vida, onde fui moldado, onde aprendi, onde cresci como cidadão, como crítico, como ser humano.

E ao Laboratório de Biotecnologia Agrícola da Unioeste, me local de trabalho, onde aprendi que só conhecemos nossa verdadeira capacidade quando ela é colocada em teste.

MUITO OBRIGADO.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	8
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
Polyphagotarsonemus latus	9
Controle	9
Controle biológico	11
Ácaros predadores	11
Fungos Entomopatogênicos	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS	14
TÍTULO: Seleção e caracterização de isolados do fungo <i>Beauveria bassiana</i> visando ao controle do ácaro branco <i>Polyphagotarsonemus latus</i> (BANKS, 1904) (ACARI: TARSONEMIDAE)	14
RESUMO	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
Obtenção e manutenção dos isolados fúngicos	24
Obtenção e manutenção do Ácaro Branco	25
Seleção de Isolados	25
Caracterização do crescimento vegetativo e produção de conídios	26
Experimento em casa de vegetação	28
Experimento em campo	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
Seleção de Isolados	30
Caracterização do crescimento e produção de conídios	32
Experimento de casa de vegetação	34
Experimento em campo	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
LISTA DE TABELAS	46
LISTA DE FIGURAS	491
NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF BIOLOGY	502

INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as 545 espécies pertencentes à família Tarsonemidae, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) é citada como uma das principais em importância agrícola, pois, além de ser cosmopolita é uma praga polífaga sendo associada a várias culturas, como algodão, feijão, soja, abacateiro, acerola, seringueira, citrus, mamão, maracujá, cereja brasileira, videira, batata, berinjela, pimentão, tomateiro e erva-mate (Moraes e Fletchmann, 2008).

Seu aumento populacional está intimamente relacionado às condições climáticas de temperatura e umidade, e sua dispersão ocorre principalmente entre as plantas próximas e em contato, ou podem dispersar-se pelo vento. Existem também, relatos da presença de fêmeas de *P. latus* encontradas nas pernas de moscas-brancas podendo ser a forésia mais um veículo de dispersão. Usualmente, instala-se principalmente na face abaxial de folhas jovens, onde encontra local ideal com disponibilidade de abrigo e alimento. Na alimentação perfura a parede celular vegetal fazendo com que o conteúdo intracelular extravase, sendo esse rompimento da parede uma porta de entrada para microrganismos fitopatogênicos oportunistas, além de causar crescimento desuniforme da folha e redução da capacidade fotossintética podendo levar à queda precoce (Moraes e Fletchmann, 2008).

Usualmente, a forma mais comum de controle deste ácaro é por meio da aplicação de acaricidas químicos, cuja utilização mal conduzida traz efeitos negativos, como intoxicações humana no momento da aplicação, presença de resíduos nos alimentos, além de levar ao desenvolvimento de populações de ácaros resistentes aos princípios ativos e eliminar organismos não alvo incluindo inimigos naturais (Oliveira, 2005; Gallo et al., 2002).

A situação se agrava quando o ácaro branco ataca culturas para as quais não há acaricidas químicos registrados, como é o caso da erva-mate, onde esta espécie de ácaro é citada como importante praga de viveiro e causador de danos severos em plantas jovens ou em brotações (Alves et al., 2010).

Dentro do contexto da conservação e manejo de recursos naturais visando à redução de impactos ambientais e também sobre a saúde humana, formas alternativas de controle de ácaros fitófagos vêm sendo pesquisadas. Nesse sentido, os fungos entomopatogênicos apresentam resultados bastante significativos em condições de laboratório e também em campo, tendo sido avaliados contra *P. latus*, em condições de laboratório e casa de vegetação (Penã et al., 1996), *Tetranychus urticae* em laboratório e casa de vegetação (Tamai et al.,

2002; Moro *et al.*, 2011) e *Oligonychus yothersi* em condições de laboratório (Oliveira *et al.*, 2004).

Contudo, trabalhos com *P. latus* que complementem a fase de seleção de isolados em laboratório, visando à utilização em condições de campo são inexistentes.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Polyphagotarsonemus latus

A família Tarsonemidae é de extrema importância na agricultura brasileira, sendo constituída por ácaros polípagos e cosmopolitas com registro de ocorrência em diversas culturas de importância econômica e em todas as regiões do Brasil, com destaque para o ácaro branco, *P. latus* (Moraes & Flechtmann, 2008).

P. latus é conhecido vulgarmente no Brasil como ácaro branco, devido à coloração translúcida de seu corpo, já na língua inglesa a referência a esta espécie é dada por *broad mite*. O primeiro registro de *P. latus* no Brasil foi realizado por Bondar (1928), que verificou a ocorrência da praga ao observar danos causados nas folhas novas de feijoeiro. Desde então, sua ocorrência já tem relatos confirmados nas culturas de pepino (Basset, 1981), mamão (Manica, 1982), berinjela (Cross & Bassett, 1982), limão (Silveira, 1993), algodão (Cividantes *et al.*, 1987), feijão (Rosolem & Marubayashi, 1994), pimenta (Venzon *et al.*, 2008) maracujá, pinhão manso (Kikuchi *et al.*, 2009) cereja brasileira, batata, pimentão, tomateiro (Moraes & Flechtmann, 2008) e erva-mate, sendo para esta última destacado como praga em viveiros de mudas, onde ataca brotações, levando à queda das folhas, inviabilizando-as para plantio (Alves *et al.*, 2010).

Em todas as culturas em que ocorre, causa danos de grande monta, o ácaro se encontra na face abaxial da folha em grande número de indivíduos, durante a alimentação rompe a parede celular e o conteúdo das células extravasa servindo de alimento. Esse rompimento celular causa necrose na folha, e é potencial porta para entrada de patógenos, a necrose cicatriza causando escurecimento e enrijecimento da folha, além de causar crescimento desuniforme, causando encarquilhamento, reduzindo a capacidade fotossintética e queda prematura das folhas. (Moraes & Flechtmann, 2008).

Controle

No geral, e para quase todas as culturas, o método de controle de ácaros praga mais utilizado é o químico, sendo o mercado agrícola de produtos químicos um dos mercados mais

emergentes na atualidade, e o Brasil é o país que mais os utiliza. Em 2010, o Brasil conseguiu alcançar a marca de 190% de aumento de consumo destes produtos referente ao ano anterior (Abrasco, 2012).

Organofosforados, apesar da toxicidade, são utilizados para controle de ácaros. Especificamente para *P. latus*, são registrados Vexter (clorpirifós) na cultura do algodão, Ofunack 400 EC (piridafentona) para cultura do algodão, feijão e citros, Lorsban 480 BR (clorpirifós) em algodão, e Curinga (clorpirifós) também em algodão (Agrofit, 2014).

Mesmo com todos os problemas relacionados aos organoclorados e apesar de existirem trabalhos que demonstraram a evolução de resistência aos acaricidas por algumas espécies (Gravena, 1994; Omoto et al., 1994), eles ainda são utilizados para controle de ácaros. O produto Dicofol, por exemplo, está liberado para controle de, *P. latus* (citros e algodão), *Tetranychus urticae* (algodão), *Tetranychus ludeni* (algodão) e *Brevipalpus phoenicis*, *Eriophyes sheldoni* e *Panonychus citri*, em citros, já o Tricofol esta liberado para controle de *Panonychus ulmi* em macieiras (Agrofit, 2014).

Os piretroides surgiram nos anos 80 com a promessa de diminuir os impactos ambientais e na saúde pública já que não apresentava acúmulo nos tecidos como no caso dos clorados, apresentavam pouco impacto sobre mamíferos, baixa persistência no ambiente, além de amplo espectro de ação, graças a estas características e a “segurança” atribuída aos piretroides, sua utilização foi amplamente difundida (Santos et al., 2007). Porém, estudos posteriores demonstraram que as constantes reaplicações de piretroides causam riscos à saúde de pássaros e mamíferos, além de apresentarem alta toxicidade a peixes, abelhas e artrópodes aquáticos (Queiroz et al., 2001; Viran et al., 2003).

A ação imediata dos piretroides quando a aplicação é realizada de forma correta é bastante evidente, havendo uma diversidade de piretroides existentes no mercado que são amplamente utilizados para o controle de ácaros-praga, como Brigade 100EC e Bistar 100EC utilizados para controle de *P. latus* e *Tetranychus urticae*, Capture 100EC e Meothin 300 utilizados também para controle de *T. urticae*, além de Danimem 300EC utilizado para controle de *Oligonychus yothersi* (Agrofit, 2014).

Além dos problemas ambientais decorrentes da utilização de produtos químicos, há que se considerar também, problemas decorrentes da aplicação, seja em doses ou estratégias erradas, e ainda aplicações realizadas sob a ação de fatores abióticos como sol, chuva e vento

que podem diminuir a eficácia dos produtos, exigindo reaplicações. Desta forma, favorece-se à pressão de seleção e o desenvolvimento de populações de pragas resistentes.

Além disso, o espectro de ação dos acaricidas químicos é muito grande, eliminando não apenas as pragas, mas também os inimigos naturais como predadores e parasitoides e podem ainda a logo prazo reduzir a ação de microrganismos entomopatogênicos encontrados naturalmente no ambiente como fungos, vírus e bactérias (Alzogaray *et al.*, 1998; Alves *et al.*, 2000; Gallo *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2002; Oliveira, 2005; Oliveira & Neves, 2009).

A opção pelo controle biológico de pragas como alternativa aos produtos químicos vem ganhando cada vez mais importância, graças aos problemas já citados de seleção de populações resistentes, resíduos químicos, intoxicação dos agricultores, contaminação do meio ambiente e pouca seletividade que ocasiona a eliminação dos inimigos naturais.

Deve-se considerar ainda o fato de que algumas culturas não têm liberação para uso de agroquímicos, como é o caso da erva-mate, e para esta cultura, um único produto inseticida é registrado (Bovemax®), sendo para o controle da broca da erva-mate, cujo princípio ativo é biológico (conídios de *B. bassiana*) (Agrofit, 2014).

Controle biológico

Ácaros predadores

Atualmente os dois métodos principais de controle biológico de ácaros de importância são os ácaros predadores e os fungos entomopatogênicos.

Para Sato (2005), a importância das famílias Phytoseiidae e Stigmeidae de ácaros predadores se comprova na cultura dos citros, onde estes são os principais inimigos naturais de ácaros praga.

Muitas espécies da família Stigmeidae são predadores com maior eficiência que muitos ácaros Phytoseiidae, com potencial para uso nos programas de controle biológico em plantas perenes e em casa de vegetação. (Matioli, 2009).

Estudos específicos para controle de *P. latus* utilizando-se ácaros predadores são escassos, porém, Lopes (2009) realizou um estudo caracterizando a densidade populacional de *P. latus* e *Typhlodromalus* sp., a autora também descreve a importância de áreas naturais de refúgio para manutenção de ácaros predadores, onde podem se alimentar também de néctar ou pólen, permanecendo no local mesmo na ausência de presas.

Kikuchi *et al.* (2009) também comprovaram a eficiência de ácaros predadores como controladores de *P. latus* em pinhão manso, com destaque para *Iphiseiodes zuluagai* que além

de predação *P. latus* também se alimenta de *Tetranychus evansi* com potencial para controle de ambos, a grande vantagem da utilização de ácaros predadores é a capacidade de busca, alcançando a presa nas diferentes partes da planta.

Rodriguez Cruz (2010) também demonstrou o potencial de controle do ácaro branco por *Amblyseius herbicolus* (Phytoseiidae) em pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), onde observou que o predador foi capaz de se alimentar de todos os estádios de *P. latus*, sendo sua maior taxa de predação em pupas (75,58 indivíduos/dia).

Fungos Entomopatogênicos

A partir de 1835, quando Agostino Bassi comprovou a capacidade do fungo *Beauveria bassiana* em causar doenças em insetos, os trabalhos nesta linha de pesquisa só aumentaram. A quantidade de trabalhos publicados na literatura científica utilizando-se fungos entomopatogênicos para controle de pragas não deixa dúvidas do potencial deste patógeno, prova disto é a quantidade de pragas e culturas onde esta técnica de controle é utilizada (Sosa-Gomes e Moscardi, 1998; Faria e Magalhães, 2001; Alves, 2006; Formentini, 2012).

Dentre a diversidade de trabalhos publicados utilizando-se fungos como agentes controladores, a grande maioria está relacionada com insetos praga, porém, este grupo de patógenos se destaca também como controlador de ácaros, como *Oligonychus yothersi* (Oliveira et al., 2002), *Tetranychus urticae* (Tamai et al., 2002), *Brevipalpus phoenicis* (Rossi-Zalaf e Alves, 2006), *P. latus* (Nugroho e Ibrahim, 2004; Maketon et al., 2008).

Além da variedade de espécies de fungos com potencial para controlar pragas, a grande quantidade de isolados da mesma espécie encontrados nos mais diversos hospedeiros, regiões geográficas e conseqüentemente climas diferenciados, influenciam nas relações hospedeiro/praga. Estes fatores, somados à variabilidade genética interfere significativamente na capacidade do fungo em produzir enzimas e toxinas que são de fundamental importância na capacidade de cada isolado em se aderir, colonizar e matar o hospedeiro (Xiao et al., 2012).

Estas relações são bastante específicas chegando ao ponto de diferentes isolados de uma mesma espécie ter maior capacidade biocida contra uma mesma praga, porém, em estágios diferentes de desenvolvimento, como foi demonstrado por Rohde *et al.* (2006), ao verificar que alguns isolados *B. bassiana* tinham maior atividade contra larvas, enquanto outros para adultos de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Além dos fatores relacionados aos processos biológicos do fungo influenciarem na sua patogenicidade, o sistema imunológico dos artrópodes baseado na ação de células de defesa contra patógenos também interferem nos processos infecciosos, encapsulamento de microrganismos e melanização de esporos e conídios são alguns exemplos, como foi demonstrada por Chouvenec et al. (2009), e comprovam a complexidade desta relação praga/hospedeiro.

Todos os elementos apontados comprovam a importância dos trabalhos de seleção de isolados, que é o primeiro passo e a base para que um programa de controle biológico com utilização de fungo entomopatogênicos seja conduzido com sucesso.

Porém, para que um isolado seja considerado realmente eficiente, sua capacidade de produção de conídios também deve ser avaliada, afinal, pensando em controle de ácaros em culturas de grandes extensões, um fungo com capacidade limitada de produção de conídios torna-se inviável para multiplicação em grande escala prova disto são alguns programas de sucesso instalados no Brasil como do “moleque-da-bananeira, broca do café, cigarrinha das pastagens (Neves & Hirose, 2005; Alves et al., 2008).

Apesar de trabalhos com seleção de isolados existentes na literatura serem inúmeros, são focados principalmente na avaliação da atividade inseticida (ou acaricida) dos isolados, sendo em menor número aqueles que buscam também conhecer outros atributos do fungo ligados à sua capacidade de crescimento e produção de conídios em diferentes meios de cultivo.

Nesse sentido, destacam-se nessa linha, os estudos de Rohde *et al.* (2006), Formentini (2012), Fanti & Alves (2013), nos quais se vê a abordagem de outros parâmetros biológicos dos isolados nos trabalhos de seleção visando ao controle de insetos.

Em relação à seleção de fungos contra ácaros fitófagos, a variação na atividade dos isolados também se observa, como mostra um estudo em que 45 isolados de diferentes espécies de *B. bassiana* (32), *M. anisopliae* (10), *Hirsutella* sp. (1), *Isaria farinosa* (1) e *Aschersonia aleyrodis* (1), foram avaliados contra *Tetranychus urticae*. Dentre todos os isolados, apenas cinco isolados de *B. bassiana* e seis de *M. anisopliae* apresentaram potencial acaricida, demonstrando que nem todos são eficientes (Tamai et al., 2002).

Na mesma linha de seleção de isolados, também foram avaliados 81 isolados de *B. bassiana*, 10 de *M. anisopliae* e oito de *Isaria fumosorosea* sobre *Oligonychus yothersi*.

Como resultados, verificou-se que apenas nove causaram mortalidade superior a 70%, sendo que todos os nove eram isolados de *B. bassiana* (Oliveira et al., 2002; 2004).

Outro ácaro de bastante importância agrícola é o *Brevipalpus phoenicis*, para esta praga Rossi-Zalaf e Alves (2006) testaram vários isolados de fungo, sendo que *Hirsutella thompsonii* foi aquele que apresentou maior potencial de mortalidade chegando a 90%.

Especificamente para *P. latus*, há poucos trabalhos de avaliação de fungos entomopatogênicos, Nugroro e Ibrahim (2004) utilizaram isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *I. fumosorosea* em um trabalho de comparação de virulência contra *P. latus*, e concluíram que *B. bassiana* foi o mais virulento entre os três, seguido por *M. anisopliae* e depois por *I. fumosorosea*.

Maketon et al. (2008) avaliaram a capacidade biocida de *M. anisopliae* em adultos, larvas e ovos de *P. latus*, onde encontraram um isolado de *M. anisopliae* que causou morte de mais de 70% de adultos e 100% de larvas, porém a capacidade ovicida foi significativamente menor, demonstrando a variação de mortalidade que ocorre dependendo do estágio da praga alvo.

Alves et al. (2010) demonstrou o potencial de *H. thompsonii* contra *P. latus* em casa de vegetação. Outro estudo relata o potencial de isolados de *H. thompsonii*, *B. bassiana* e *I. fumosorosea*, sendo verificado que em laboratório *H. thompsonii* foi o mais eficaz, seguido por *B. bassiana*, porém em casa de vegetação, *B. bassiana* teve maior eficácia. Por outro lado, *H. thompsonii* não se mostrou viável para uma produção em grande escala e nem chegou a ser utilizado, devido à dificuldade na produção de estruturas infectivas em meio sólido, mostrando a importância de se conhecer além da atividade acaricida, também outros atributos dos isolados em trabalhos com seleção (Penã et al., 1996).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

ABRASCO – Associação Brasileira de Saúde Coletiva. Um alerta sobre os impactos dos Agrotóxicos na Saúde. *Dossiê ABRASCO*, Rio de Janeiro, Junho de 2012, 135 p.

AGROFIT - Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. 2012. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

ALVES EB; OMOTO C; FRANCO CR. 2000. Resistência cruzada entre o dicofol e outros acaricidas em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29:4, p. 765-771.

ALVES LFA; QUEIROZ DL; ANDRADE DP. 2010. Damage characterization and control tactics to broad mite (*Polyphagotarsonemus latus* Banks), in Paraguay-tea plants (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Revista Brasileira de Biociências*. 8: 208-212.

ALVES RT. 2006. *Produção, formulação e aplicação de fungos para o controle de pragas*. In: OLIVEIRA-FILHO EC; MONERRAT RG. (Org.). *Fundamentos para regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas*. 1 Ed. Planaltina, DF. Embrapa Cerrados, p. 239-253.

ALZOGARAY R; LUZ C; SILVA IG; LEUCOMA RE; TIGANO MS. 1998. Effect of deltamethrin on germination and virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em *Triatoma infestans* (Klung). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 27: 663-667.

BASSETT P. 1981. Observations on broad mite (*Polyphagotarsonemus latus*) (Acari: Tarsonemidae) attacking cucumber. *Crop Protection, Conference Pest and Diseases*. 1: 99-103.

BONDAR G. 1928. As pragas dos feijões da Bahia. *Correio Agrícola*. 6: 106-110.

CHEN Z; WANG Y. 1996. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples. *Journal of Chromatography A*. 754: 367-395.

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

CIVIDANES FJ; THOMAZINI MJ; SANTOS LG de C. 1987. Distribuição do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) em plantas de algodão. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 6: 93-104.

CROSS JV; BASSETT P. 1982. Damage to tomato and aubergine by broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). *Plant Pathology*, 31: 391-393.

FANTI ALP; ALVES LFA. 2013. Isolados de fungos entomopatogênicos visando ao controle da broca da erva-mate (*Hedypathes betulinus*) Klung (Coleoptera; Cerambycidae). *Semina: Ciências Agrárias*, 34: 1467-1478.

FARIAS MR; MAGALHÃES BP. 2001. Uso de fungos entomopatogênicos no Brasil – Situação atual e perspectivas. *Bioteecnologia Ciência e desenvolvimento*, 22: 18-21.

FORMENTINI MA. 2012. Avaliação de fungos entomopatogênicos visando ao controle da “ampola-da-erva-mate” *Gyropsylla spegazziana* (Lizer & Trelles) (Hemiptera: Psyllidae). Cascavel: Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais. 56p (Tese mestrado).

GALLO D; NAKANO O; SILVEIRA NETO S; CARVALHO RPL; BATISTA GC; BERTI FILHO E; PARRA JRP; ZUCCHI RA; ALVES SB; VENDRAMIN JD; MARCHINI LC; LOPES JRS; OMOTO C. 2002. *Entomologia agrícola*. Piracicaba, FEALQ. 920p.

GRAVENA S. 1994. Rotação de acaricidas no MIP-Citros: menos desequilíbrio e resistência. *Laranja* 15: 375-395.

HEUDORF U; ANGERER J. 2001. Metabolites of pyrethroid insecticides in urine specimens: current exposure in an urban population in Germany. *Environmental Health Perspectives*, 109: 213-217.

KIKUCHI WT; SARMENTO RA; RODRIGUES DM; RODRIGUES JCP; DARONCH WJ; LEMUS EAE; AGUIAR RWS; DIDONET J; SILVA LT; MARQUES RV; CRUZ WP. 2009.

Potencial de ácaros predadores como agentes de controle biológico de ácaros praga em pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). *Anais do I Congresso Brasileiro de Pinhão Manso*, Brasília-DF, 3 p.

LOPES EN. 2009. *Biologia de Polyphagotarsonemus latus em acessos de pinhão manso (Jatropha curcas)*. Viçosa: Entomologia, Universidade federal de Viçosa. 69 p.

MAKETON M; OROSZ-COGLAN P; SIMPRASERT J. 2008. Evaluation of *Metarhizium anizopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) for controlo f broad mite *Polyphagortarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae) in mulberry. *Exp. Appl. Acarol.* 46: 157-167.

MANICA I. 1982. Fruticultura tropical: 3. Mamão. *Ceres*, 276 p.

MATIOLI AL. 2009. Ácaros predadores no controle biológico de ácaros pragas. Comunicado técnico. Arquivos do Instituto Biológico 109. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=109

MORAES GJ; FLECHTMANN CHW. 2008. *Manual de Acarologia – Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil*. Ribeirão Preto: Ed. Holos. 308 p.

MORO LB; POLANCZYK RA; PRATISSOLI D; CARVALHO JR de; FRANCO CR. 2011. Potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *Tetranychus urticae* koch (acari: tetranychidae) em mamoeiro: efeito de cultivares sobre a patogenicidade. *Arquivos do Instituto Biológico*, 78: 267-272.

NEVES PMOJ; HIROSE E. 2005. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da Broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Neotropical Entomology*, 34: 77-82.

NORTOX AS. 2006. Cipermetrina Nortox 250 EC. Bula-Composição e utilização. Nortox S.A. Arapongas-PR. Disponível em:

<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/CIPERMETRINANO RTOX250EC.pdf>.

NUGROHO I; IBRAHIM YB. 2004. Bioassay of some entomopathogenic fungi against broad mite (*Polyphagotarsonemus latus* Banks). *International Journal of Agriculture e Biology*. 6: 223-225.

OLIVEIRA AM de. 2005. Controle integrado da mosca branca em plantio comercial de melão, através do controle químico e biológico no município de Baraúna/RN. *Mossoró: UFERSA*, 14 p.

OLIVEIRA RC; ALVES LFA; NEVES PMOJ. 2002. Suscetibilidade de *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) ao fungo *Beauveria bassiana*. *Scientia Agrícola*. 59: 187-189.

OLIVEIRA RC; NEVES PMOJ; ALVES LFA. 2004. Seleção de Fungos Entomopatogênicos para o controle de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). *Neotropical Entomology*. 33: 347-351.

OLIVEIRA RC; NEVES PMOJ. 2009. Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos fitossanitários. *Cultivando Saber 2*: 20-29.

OMOTO C; DENNEHY T J; MCCOY CW; CRANE SE; LONG JW. 1994. Detection and characterization of the interpopulation variation of citrus rust mite (Acari: Eriophyidae) resistance to dicofol in Florida citrus. *J. Econ. Entomol.* 87:566-572.

PEÑA JE; OSBORNE LS; DUNCAN RE. 1996. Potential of fungi as biocontrol agents of *Polyphagotarsonemus latus*. *Entomophaga*. 41: 27-36.

QUEIROZ SCN; COLLINS CH; JARDIM ICSF. 2001. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Quimica Nova*. 24: 68-76.

ROHDE C; ALVES LFA; NEVES PMOJ; ALVES SB; SILVA ERL; ALMEIDA JEM. 2006. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology*. 35: 231-240.

RODRIGUÉS CRUZ FAR. 2010. *Potencial de Amblyseius herbicolus* (Acari: Fytoseiidae) para o controle biológico de *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae) em pimenta malagueta. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 60p. (Tese Mestrado).

ROSSI-ZALAF LS; ALVES SB. 2006. Susceptibility of *Brevipalpus phoenicis* to entomopathogenic fungi. *Exp. Appl. Acarol.* 40:37-47.

ROSOLEM CA; MARUBAYASHI OM. 1994. Seja o doutor do seu feijoeiro. Arquivo do agrônomo - nº 7. *Encarte de informações agronômicas*. 68:1-18.

SATO ME. 2005. Perspectiva do uso de ácaros predadores no controle biológico de ácaros-praga na citricultura. *Laranja*, 26: 291-306.

SANTOS MAT; AREAS MA; REYES FGR. 2007. *Piretroides* - Uma visão geral. Alimento e Nutrição. Araraquara, 18: 339-349.

SILVEIRA DA. 1993. O controle racional do ácaro branco e da ferrugem. *Informe Coopercitrus*, 7: 17-20.

SODERLUND DM; CLARK JM; SHEETS LP; MULLIN LS; PICCIRILLO VJ; SARGENT D; STEVENS JT; WEINER ML. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171:1-9.

SOSA-GÓMEZ DR; MOSCARDI F. 1998. Laboratory and Field Studies on the Infection of Stink Bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii*, and *Euschistus heros* (Hemiptera:

Pentatomidae) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71: 115-120.

TAMAI MA; ALVES SB; ALMEIDA JEM; FAION M. 2002. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, 69: 77-84.

VENZON M; ROSADO MC; MOLINARUGAMA AJ; DUARTE VS; DIAS R; PALLINI A. 2008. Acaricidal efficacy of neem against *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). *Crop Protection*, 27: 869-872.

VIRAN R; UNLU EF; POLAT H; KOÇAK O. 2003. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicol Environ Saf*, 55: 82-85.

XIAO G; YING SH; ZHENG P; WANG ZL; ZHANG S; XIE XQ; SHANG Y; LEGER RJST; ZHAO GP; WANG C; FENG MG. 2012. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Scientific Reports*, 2: 1-10.

Título: Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)

Autores: Martins, C.C.^{1,5}, Alves, L. F. A.^{2,5}, Mamprim, A. P.^{3,5} e Lermen P. A. de Souza^{4,5}.

Instituição: ¹ Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

² Doutor em Ciências pela ESALQ, Professor associado nível C, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Centro de Ciências Biológicas e da saúde.

³ Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

⁴ Discente de Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná

⁵ Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Pesquisadora colaboradora
Laboratório de Biotecnologia Agrícola. Rua Universitária, 2069 – Cascavel,
PR, Brasil, 85819-110. Fone: 0 55 45 32203288.

Número de tabelas: 5

Número de figures: 1

Palavras-chave: controle microbiano, fungos entomopatogênicos, ácaro branco

Keywords: microbial control, entomopathogenic fungi , white mites

Título abreviado: Sel. e carac. de isol. do fungo *B. bassiana* visando ao cont. do ácaro branco *P. latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)

Autor para correspondência: Claudécir Castilho Martins. Rua: Rubens Lopes, 435, apto 22, Cascavel – PR., Cep: 85819170. e-mail: claudecimartins@hotmail.com

Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana* visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo selecionar isolados do fungo *Beauveria bassiana* em condições de laboratório com potencial de uso em casa de vegetação e campo no controle do ácaro branco. Foi realizada uma seleção com 30 isolados de *Beauveria spp.*, através de pulverização direta de conídios (1×10^8 conídios/mL) sobre discos foliares de pimenta contendo 15 ácaros. As avaliações foram realizadas ao terceiro e sexto dia contando-se o número de mortos, e confirmação do patógeno em câmara úmida. Parâmetros de diâmetro de colônia e produção de conídios foram realizados com os isolados que causaram mortalidade confirmada acima de 50%. Para o bioensaio em casa de vegetação foram preparados 10 parcelas, com 10 vasos contendo duas mudas de feijão em cada vaso, sendo 5 parcelas destinadas a testemunha, e cinco para aplicação do Unioeste 53 (1×10^8 conídios/mL em calda formulada, no volume de 800L/ha, utilizando pulverizador costal), a avaliação constou da contagem prévia e posterior à aplicação do número de ácaros vivos em 10 folíolos, tanto nas parcelas destinadas ao tratamento com fungo, quanto na testemunha. A fase de campo seguiu os mesmos padrões, porém, com área experimental total de 225m², com oito parcelas de 10,24m², sendo 4 testemunhas e 4 onde foi aplicado o isolado Unioeste 53 seguindo metodologia de aplicação e avaliação já descritas para casa de vegetação. Em laboratório o isolado Unioeste 53 causou mortalidade total de 70% e 57,7% de mortalidade confirmada, em casa de vegetação, apresentou redução da população de 76,71% 16 dias após aplicação, já em campo, a redução da população foi de 66% após 12 dias da aplicação.

PALAVRAS-CHAVE: controle microbiano, fungos entomopatogênicos, ácaro branco

INTRODUÇÃO

Polyphagotarsonemus latus (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) é citado na literatura como uma das principais espécies de ácaro em importância agrícola, sendo uma praga cosmopolita e polífaga associada a diversas culturas (Moraes e Fletchmann, 2008; Sarmiento et al., 2011).

Seus danos decorrem da perfuração da parede celular vegetal provocando o extravasamento do conteúdo intracelular do qual se alimenta, o rompimento da parede celular pode levar ao crescimento desuniforme da folha, redução da capacidade fotossintética, queda precoce da folha, e conseqüentemente afetar o desenvolvimento e produtividade da planta, além de constituir-se também como porta de entrada para microrganismos fitopatogênicos oportunistas (Moraes e Flechtmann, 2008; Alves et al., 2010).

A utilização de produtos químicos é a forma usual de controle populacional do ácaro, cuja utilização mal conduzida traz efeitos negativos, como intoxicações no momento da aplicação, presença de resíduos nos alimentos, além de levar a seleção de populações de ácaros resistentes a esses princípios ativos, eliminar organismos não alvo ocasionando desaparecimento de inimigos naturais e até mesmo vertebrados dependendo da concentração e tempo de exposição (Gallo et al., 2002; Alves et al., 2008).

A situação se agrava quando o *P. latus* ataca culturas para as quais não há acaricidas químicos registrados, como é o caso da erva-mate, onde é citado como importante praga de viveiros de mudas, podendo inviabilizar as mudas para plantio (Alves et al., 2010; Agrofit, 2014). Também, se ressalta a situação dos cultivos orgânicos e agroecológicos nos quais é restritivo o uso de acaricidas químicos, principalmente as hortícolas nas quais *P. latus* ocorre e que são bastante comuns em pequenas propriedades nas quais são responsáveis por uma grande fatia do lucro do pequeno produtor (Echer et al., 2002).

Dentro do contexto da conservação e manejo de recursos naturais, visando à redução de impactos ambientais e também sobre a saúde humana, formas alternativas de controle de ácaros fitófagos vêm sendo pesquisadas. Nesse sentido, os fungos entomopatogênicos apresentam resultados bastante significativos contra *P. latus*, Peña et al. (1996), Nugroho e Ibrahim. (2007) e Alves et al. (2010) demonstraram o potencial dos fungos entomopatogênicos para controle dessa espécie em condições de laboratório e casa de vegetação. Porém, ressalta-se que estudos em condições de campo, em que se avaliam fungos entomopatogênicos no controle de ácaros no geral são escassos e no caso de *P. latus* inexistentes.

Diante do potencial dos fungos entomopatogênicos, este trabalho teve como objetivo selecionar e avaliar o potencial de isolados do fungo *Beauveria spp.*, provenientes do estado do Paraná, visando sua utilização no controle do ácaro branco *P. latus* em casa de vegetação e campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em três fases, sendo a primeira conduzida em laboratório, a segunda em casa de vegetação ambas no Campus da Unioeste - Cascavel no período de março a dezembro de 2013 e a terceira realizada em campo, no município de Marechal Cândido Rondon, PR, linha São Cristovão, entre o período de janeiro a março de 2014.

Obtenção e manutenção dos isolados fúngicos

Os 30 isolados foram obtidos da coleção de fungos entomopatogênicos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, PR (<http://splink.cria.org.br/manager/detail?resource=CFEUnioeste>), onde são mantidos na forma de conídios puros, provenientes de cultivos monospóricos mantidos a -80°C (Tabela 1).

Os isolados foram inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura para produção de conídios (ME) (Ágar 20 g, extrato de levedura 5 g, mistura de sais 4,6 g, glicose 10 g e água destilada 1000 mL) e incubados em $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 14 horas de luz, por 7 dias. Após este período, os conídios foram raspados da superfície do meio de cultura e armazenados em tubos de vidro esterilizados, que foram fechados e armazenados por um período não superior a 15 dias em -10°C para posterior utilização nos bioensaios (Alves et al., 1998).

Obtenção e manutenção do Ácaro Branco

Os ácaros da espécie *P. latus* foram obtidos em amoreira (*Morus Alba* L.). A identificação da espécie foi realizada segundo Ferla et al. (2005) e Moraes e Flechtmann (2008), por meio da observação em microscópio, de ácaros adultos preparados em lâminas.

Para criação, folhas de amoreira infestadas com *P. latus* foram presas a plantas jovens de pimenta cambuci (*Capsicum baccatum* L.) cultivadas em vasos e mantidas em casa de vegetação. Notando-se que as folhas apresentavam-se encarquilhadas, novas plantas de pimenta eram introduzidas na criação estoque para serem infestadas (Echer et al., 2002).

Seleção de Isolados

A seleção de isolados foi baseada no estudo de Oliveira et al. (2004), e para tal, os isolados de *B. bassiana* foram multiplicados em placas de Petri conforme descrito anteriormente para a produção de inóculo. Os conídios foram raspados e transferidos para tubos de vidro, onde se adicionou água destilada + Tween 80 0,01% e, após contagem em câmara de Neubauer, as suspensões foram padronizadas em 1×10^8 conídios/mL. Os isolados utilizados apresentavam viabilidade mínima de 90%.

Para elaboração dos bioensaios foram recortados discos foliares de 226 mm^2 , utilizando um vazador de metal. Os discos foram circundados com algodão umedecido e

mantidos em placa de Petri revestida com espuma umedecida, com a face abaxial voltada para cima (Moraes e Flechtmann, 2008). Cada disco recebeu 10 fêmeas adultas de *P. latus*. Para cada isolado foram preparadas 3 placas contendo 3 discos cada, com 10 indivíduos/disco, totalizando 90 ácaros/tratamento. Cada placa foi considerada uma repetição.

Foi pulverizado 1 mL de suspensão 1×10^8 conídios/ml sobre cada disco foliar utilizando-se torre de Potter ($0,703 \text{ kgf/cm}^2$). Após a pulverização, as placas foram incubadas a $27 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. Na testemunha, foi pulverizada somente água destilada estéril + Tween 80 0,01%.

A avaliação foi realizada ao terceiro e sexto dia após aplicação dos fungos. Os ácaros mortos foram transferidos para câmara úmida para conidiogênese, o exame dos cadáveres foi realizado utilizando microscópio estereoscópico (aumento de $250\times$) buscando sinais da presença do fungo para identificação segundo Humber (1997).

Os dados de porcentagem de mortalidade total e confirmada ao final do sexto dia foram analisados por meio de estatística descritiva e graficamente, utilizando-se o programa Microsoft Excel, sendo selecionados os isolados que provocaram percentual de mortalidade total e confirmada superior a 50%, para estes isolados fez-se também uma comparação da mortalidade confirmada ao terceiro dia.

Os resultados foram verificados quanto a normalidade dos dados utilizando-se o teste de Levene pelo programa Statistic 7.0, e as médias foram comparadas pelo teste de t-Student ($p > 0,05$) utilizando-se o programa Sisvar 5.0 e ao final, o isolado que apresentou melhor percentual para as duas avaliações foi selecionado para ensaios em campo.

Caracterização do crescimento vegetativo e produção de conídios

Foi realizada a caracterização dos isolados selecionados, por meio da avaliação do crescimento vegetativo e de produção de conídios em meio de cultura e arroz.

Para a avaliação do crescimento vegetativo, os isolados foram multiplicados em meio de cultura BDA (batata, ágar, dextrose) em placas de Petri, fazendo-se a inoculação com uma agulha de platina em 3 pontos na superfície do meio de cultura. Em seguida, as placas foram incubadas por 7 dias, em $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 14 horas de luz. Após esse período, foram feitas duas medidas perpendiculares das colônias, visando-se obter o diâmetro médio destas e o cálculo da sua área. Para cada isolado, foram preparadas quatro placas.

Após a avaliação do crescimento vegetativo, foram selecionadas duas colônias de cada uma das placas, que apresentassem crescimento uniforme e homogêneo para estimar a produção de conídios por colônia e conídios por centímetro quadrado. Estas foram recortadas no limite do crescimento e transferidas individualmente para tubos de vidro estéril, onde foram adicionados 10 mL de água destilada com Tween 80 0,01% para agitação até o desprendimento dos conídios. Foram realizadas diluições seriadas e, posterior contagem dos conídios em câmara de Neubauer. Para cada isolado foram utilizadas quatro placas, sendo recortadas duas colônias de cada placa e cada colônia considerada uma repetição.

A produção de conídios em arroz foi realizada conforme Alves e Faria (2010), preparando-se 5 sacos de polipropileno contendo 100g foram acrescidos com 40 mL de água destilada, homogeneizados manualmente e autoclavados por 30 min, a 125°C . Após resfriamento, foram adicionados 10 mL de suspensão de conídios (1×10^8 conídios/mL). Em seguida, foram incubados por 10 dias ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, 14 horas de luz). Diariamente, os sacos plásticos foram agitados para evitar a formação de grumos. Após 10 dias, avaliou-se, retirando 1g do arroz + conídio de cada saco, cada amostra foi suspensa em 10 mL de água destilada + Tween 80 0,01%. Foram realizadas três diluições seriadas e realizada a contagem dos conídios em câmara de Neubauer para estimar a produção de conídios por grama de arroz, para estimar a produção por cm^2 a produção total da colônia foi dividida pela área da mesma.

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov & Lilliefors, a homogeneidade pelo teste de Levene, e as médias comparadas pelo teste Kruskal-Wallis com comparação de Student-Newman-Keuls a 5% de significância, utilizando-se o programa BioEstat 5.3.

Experimento em casa de vegetação

Foram preparados vasos de polipropileno de 3 L com substrato composto de terra e cama de aviário. Em seguida, dois grãos de feijão da variedade Tiziu foram semeados em cada vaso, sendo regados na sequência e, diariamente no período de final de tarde. Quando as mudas atingiram 20 cm de altura e tinham no mínimo 6 folhas foram infestadas com ácaro branco, prendendo-se folhas de amoreira infestadas com *P. latus* sobre as folhas do feijão.

O fungo foi novamente multiplicado em arroz (Alves e Faria, 2010) e, preparada uma formulação tipo óleo emulsionável (1×10^8 conídios/mL), conforme Oliveira (2009). A formulação foi suspensa em água e aplicada com pulverizador costal no volume equivalente a 800 L/ha, nas faces abaxial e adaxial das folhas, devido aos hábitos do ácaro e à cobertura vegetal. Os vasos cotendo duas plantas de feijão cada, foram distribuídos na casa-de-vegetação em 10 parcelas, cada parcela constituída por 10 vasos, sendo 5 parcelas destinadas a testemunha onde foi aplicado água destilada, e outras 5 parcelas destinadas ao tratamento com o isolado Unioeste 53.

Previamente à aplicação, fez-se a avaliação populacional do ácaro nas plantas, coletando aleatoriamente, 10 folhas em cada parcela e anotando-se o número de ácaros presentes. Este procedimento foi repetido aos 4, 8, 12, 16 dias após a aplicação do fungo.

A normalidade dos dados obtidos foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk, a variância pelo teste F, para comparação de médias entre testemunha e tratamento no tempo foi utilizado o teste de Wilcoxon, e teste de Friedman para comparação da testemunha (pré-

contagem) e os respectivos tratamentos, ambos os testes a 5% de significância pelo programa BioEstat 5.3.

Experimento em campo

O experimento em campo foi realizado na Linha São Cristóvão, município de Marechal Cândido Rondon-PR (Latitude 24°39'18.94"S, longitude 54° 01'08.63"O e altitude 302m).

A área experimental era de 225m² divididas em 9 parcelas de 10,24 m², contendo 64 covas com 3 sementes cada, com espaçamento de 40 cm entre covas e distribuídas em 8 linhas e 8 colunas segundo recomendações de plantio (Emater, 2000). Para o experimento, foram consideradas apenas as plantas das 7 fileiras e 7 linhas centrais. Para evitar a deriva durante a aplicação do fungo com pulverizador, a parcela pulverizada foi isolada com lona plástica.

No tratamento foram destinadas quatro parcelas para a aplicação do isolado de fungo *B. bassiana* Unioeste 53, e para a testemunha, onde foi aplicado água, outras quatro parcelas.

A infestação das parcelas, produção, aplicação do fungo e avaliações pré e posteriores à aplicação foram realizadas conforme descrito para o experimento de casa de vegetação.

Durante o período de experimentação em campo os dados meteorológicos (valores médios diários de temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar) foram obtidos junto ao Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR).

A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk, a variância pelo teste F, para comparação de médias entre testemunha e tratamento no tempo foi utilizado teste de Wilcoxon, e teste de Friedman para comparação da testemunha (pré-contagem) e os respectivos tratamentos, ambos os testes a 5% de significância pelo programa BioEstat 5.3.

Para o experimento em campo calculou-se também a eficiência do tratamento por meio da fórmula de Abbott (1925):

Eficiência (%) = $\frac{\% Mo - \% Mt}{100 - \% Mt} \times 100$, onde:

$$100 - \% Mt$$

Mo = Número de indivíduos observados no tratamento

Mt = Número de indivíduos na testemunha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seleção de Isolados

A mortalidade total de ácaros oscilou entre 0 e 82%, havendo grande variação entre os isolados. Em relação à mortalidade confirmada, no geral, foi muito baixa, não alcançando 40%, igualmente variando entre os isolados. Ressalta-se ainda que a variação entre os valores obtidos de mortalidade total e, confirmada para um mesmo isolado (Figura 1) é bastante comum e pode ocorrer por vários motivos. Entre eles, muitas vezes o fungo é o causador da morte, porém nem sempre ocorre a confirmação, já que o hospedeiro pode morrer por danos mecânicos como perfuração do tegumento ou de órgãos vitais, ou de forma indireta, já que o crescimento do fungo leva à produção de toxinas e exaustão de nutrientes e, nem sempre o fungo consegue condições adequadas para completar seu ciclo de vida (Hajek e ST Leger, 1994; Alves, 1998).

Assim, com base na confirmação mínima de 50%, 6 dias após a aplicação (DAA), foram selecionados os isolados Unioeste 26, Unioeste 53 e Unioeste 39) (Figura 1).

Além disso, na comparação da mortalidade aos 3 DAA, observou-se a maior eficiência do isolado Unioeste 53 com 33% de mortalidade, sendo selecionado para avaliação em casa-de-vegetação e campo (Tabela 2). Este resultado de mortalidade ao 3DAA é importante levando-se em conta o ciclo de vida de fêmeas de *P. latus* que vai de ovo a adulto em aproximadamente 4 dias (Vieira e Chiavegato, 1998), pois este resultado demonstra o

potencial do isolado em causar maior impacto no desenvolvimento da geração seguinte, evitando que maior quantidade de ninfas cheguem a fase adulta evitando ou reduzindo a postura de ovos.

A seleção de isolados é o primeiro passo a ser tomado para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas em função da estreita relação existente entre patógeno × hospedeiro, além da variabilidade genética que influencia nos processos infecciosos do fungo e ainda o próprio sistema de defesa do hospedeiro (Chouvenc et al., 2009; Xiao et al., 2012). Assim, um trabalho bem conduzido de seleção de isolados em laboratório eleva as chances de sucesso em campo.

Trabalhos com isolados do fungo *B. bassiana* visando ao controle de *P. latus* são escassos na literatura, e os existentes, demonstram principalmente a comparação entre espécies de fungo e não a seleção de isolados de uma mesma espécie.

Neste sentido, Penã et al. (1996) compararam a mortalidade de *P. latus* por isolados de *B. bassiana*, *Hirsutella thompsonii* F., e *Isaria fumosoroseus* W., e observaram que a mortalidade iniciou-se no segundo dia, com aproximadamente 20% e atingiu 70% no sexto dia. Os resultados encontrados pelos autores apesar de apresentarem valores percentuais diferentes, se assemelham com os resultados do presente trabalho, no qual foi verificada mortalidade confirmada de 33 e 57,7% com o isolado Unioeste 53 aos 3 e 6 DAA respectivamente.

Nugroho e Ibrahim (2004) também testaram frente a *P. latus*, *B. bassiana*, além de *Metarhizium anisopliae* (M) e *I. fumosoroseus*, sendo *B. bassiana* o que resultou maior mortalidade (80,9% na concentração de 1×10^8 conídios/mL), e tal como aqui observado, com grande variação entre os isolados.

A diferença de mortalidade encontrada nos resultados deste trabalho pode estar ligada justamente à esta variabilidade genética, que se traduz em diferenças na capacidade de produzir ou sintetizar enzimas, como proteases e quitinases, e mediadores de crescimento celular, ácidos graxos cuticulares degradantes e algumas hidrofobinas que são extremamente importantes para aderência infecção e patogenicidade ao hospedeiro, além de compostos utilizados como imunossupressores e toxinas como a Beauvericina, as quais têm como função inibir o desenvolvimento de microrganismos oportunistas (Von Döhren, 2004; Valencia et al., 2011; Xiao et al., 2012).

Além dos fatores ligados ao fungo, Chouvenec et al. (2009) demonstraram que o sistema de defesa do hospedeiro é muito eficiente em suprimir a infecção por fungos, os autores observaram o aumento na quantidade de hemócitos na hemolinfa do cupim *Reticulitermes flavipes* (Kollar, 1837), 24 horas após a exposição dos mesmos a conídios do fungo *M. anisopliae*, além da capacidade de defesa através de agregação celular, melanização, encapsulamento e isolamento de nódulo no ponto de infecção do fungo.

Os autores ainda observaram a maior eficiência dos isolados que apresentavam menor tempo para completar o ciclo de infecção (aderência no hospedeiro, colonização e morte do hospedeiro), demonstrando assim a importância de selecionar isolados não somente com alta capacidade de matar o hospedeiro, mas também, no menor tempo, justificando a importância de estudos de seleção e caracterização de isolados que incluam esses parâmetros, como ocorrido no presente trabalho realizado no terceiro dia, devido ao ciclo de vida da espécie em questão.

Caracterização do crescimento e produção de conídios

Na comparação dos parâmetros de crescimento e produção, os isolados Unioeste 26 e 39 apresentaram diâmetros médios de 1,8 e 2,6 cm, já o isolado Unioeste 53 apresentou um

diâmetro intermediário, alcançando média de 2 cm (Tabela 3). Os valores obtidos são inferiores, porém, próximos aos encontrados em outros estudos com variações entre 2,9 a 4,5 (Potrich et al. 2006; Rohde et al. 2006).

Tais diferenças se devem, principalmente ao fato de se tratar de isolados diferentes, e sendo o fungo um ser vivo, suas necessidades fisiológicas podem variar entre os isolados. Também, variações metodológicas podem influenciar, já que o tempo de incubação relatado oscila entre 7 e 10 dias.

Ainda que haja variação no crescimento vegetativo, tal como observado por Potrich et al. (2006) e Rohde et al. (2006), a produção de conídios/colônia obtida no presente trabalho foi intermediária se comparada aos estudos citados ($4,8 \times 10^8$ e $33,5 \times 10^8$, respectivamente), alcançando $26,2 \times 10^8$ para o isolado Unioeste 53 (Tabela 3).

Já para a produção de conídios/cm² o isolado Unioeste 53 também demonstrou uma produção bastante elevada alcançando produção de $7,9 \times 10^8$, enquanto as nos referidos trabalhos citados anteriormente, os maiores valores obtidos foram próximos a $3,0 \times 10^8$, concluindo-se que não há relação fixa entre tamanho de colônia e produção de conídios.

Em relação à produção de conídios no arroz, o isolado Unioeste 26 foi significativamente superior, com produção de $3,1 \times 10^9$ conídios/g de arroz. Os demais, não diferiram entre si, e a produtividade foi de $1,6 \times 10^9$ e $1,7 \times 10^9$ conídios/g arroz, respectivamente par os isolados Unioeste 53 e 39 (Tabela 3).

A comparação com outros trabalhos para produção em arroz é dificultada pelo fato de não ser possível padronizar o meio de cultura, já que há variações referentes à procedência, grupo ou mesmo safra de arroz, e que refletem na qualidade nutricional do substrato. Mesmo assim, os resultados encontrados para o isolado Unioeste 53 ficam muito próximos e em

alguns casos até superiores aos verificados em estudos semelhantes (Londono et al., 1992, Vilas Boas et al., 1996, Potrich et al., 2006, Rohde et al. 2006).

Considerando todos os parâmetros avaliados de mortalidade e na caracterização dos isolados selecionados, ainda que não tenha sido o de maior produtividade em arroz, fator este importante para uma produção massal, o isolado Unioeste 53 foi escolhido para posteriores testes em casa de vegetação e campo.

Experimento de casa de vegetação

Previamente à aplicação, a população de ácaros nas plantas destinadas à testemunha era de 11 ácaros/folha, sendo os valores estatisticamente inalterados até a terceira avaliação (12 DAA (dias após aplicação)), quando se alcançou 17,3 ácaros/folha e assim se manteve até a última avaliação. Em termos percentuais, o crescimento populacional na testemunha, da pré-avaliação a última (16 DAA), foi de 64 % (Tabela 4).

Por outro lado, nas plantas do tratamento com fungo, a população inicial de 13,2 ácaros/folha reduziu-se significativamente já na primeira avaliação (4 DAA), alcançando 9,2 ácaros/folha. Na segunda avaliação (8 DAA), a população reduziu-se ainda mais, passando a menos de 5 ácaros/folha, mantendo-se nesse nível até a última avaliação (16 DAA). Em termos percentuais, a diferença entre a pré-avaliação e a última avaliação (16 DAA) ocorreu uma queda na população de 68,12%. Ressalta-se que, excetuando-se a contagem prévia, em todas as avaliações após a aplicação do fungo, a população das plantas tratadas com fungo sempre foi estatisticamente inferior à das plantas da testemunha (não tratadas) (Tabela 4).

A redução de aproximadamente 62% na população de ácaros 8 DAA chegando a 68,12% aos 16 DAA, corrobora o estudo de Penã *et al.* (1996), que conseguiram redução populacional de *P. latus* em 88% aos 12 DAA, em experimento realizado em casa de vegetação utilizando isolados de *B. bassiana*.

Ashraf et al. (2011) também utilizaram *B. bassiana* e, comparando o trabalho dos autores com o presente, alguns resultados demonstram a variabilidade existente entre os isolados, os autores encontraram redução populacional de 87, 8% 5 DAA, enquanto no presente trabalho com 4 DAA a redução foi de 31% demonstrando uma ação mais rápida do isolado testado pelos autores, contudo, nas demais avaliações realizadas pelos autores aos 7, 10 e 17 DAA as médias de redução da população ficaram em 59,89; 42,30 e 0,00% respectivamente, enquanto no presente trabalho aos 8, 12 e 16 DAA as médias de redução da população foram de 62, 67 e 68% respectivamente, mostrando que o isolado Unioeste 53 testado no presente estudo apresenta maior potencial de inóculo no ambiente que o testado pelos autores.

Apesar da variação entre os resultados do presente estudo e dos poucos trabalhos semelhantes, decorrente da própria experimentação (condições ambiente, espécie de planta hospedeira, isolado e concentração de conídios, entre outras), é importante ressaltar que a população do ácaro no presente trabalho, após a aplicação do fungo, se manteve baixa durante todo experimento, demonstrando o potencial do isolado Unioeste 53 para controle desta praga.

Experimento em campo

Na pré-avaliação, a população inicial foi homogênea, não havendo diferença estatística na média de ácaros entre as plantas das parcelas que receberam o tratamento com fungo e as parcelas testemunha.

Além disso, verificou-se que durante todo o experimento, a população da testemunha permaneceu constante, não sofrendo alteração significativa, ao contrário do observado nas plantas tratadas com o fungo, nas quais a população variou significativamente entre as avaliações, evidenciando a ação do fungo na população do ácaro, que diminuiu gradualmente

até o 12 DAA, elevando-se significativamente 16 DAA, porém, permanecendo abaixo da população encontrada na pré-avaliação.

Na comparação da população de ácaros nas plantas não tratadas e tratadas com fungo, em cada avaliação separadamente, observou-se não haver diferença significativa, contudo, a eficiência do tratamento com fungo, segundo Abbott (1925), ao longo do tempo aumentou até atingir o valor máximo aos 12 DAA (41,4%), reduzindo-se aos 16 DAA (3,7%) (Tabela 5).

Já na comparação em termos percentuais entre a pré-avaliação e as avaliações posteriores, 4 DAA houve redução populacional de aproximadamente 26% com a aplicação do fungo, enquanto na testemunha permaneceu praticamente inalterada. Na segunda avaliação 8 DAA ocorreu uma redução populacional de 47% com aplicação de fungo, enquanto na testemunha apenas 6%. Na terceira avaliação 12 DAA a redução populacional foi de 67%, enquanto para testemunha ocorreu um aumento de 4%. Entretanto, na quarta e última avaliação 16 DAA a população se elevou se comparada a anterior 12 DAA, porém, foi 42% menor que a pré-avaliação, enquanto na testemunha nessa avaliação a população ultrapassou a população inicial em 10% (Tabela 5).

Ressalta-se que este estudo pioneiro de avaliação de controle do *P. latus* com fungos entomopatogênicos em condições de campo mostrou que a eficiência do patógeno pode ser considerada moderada se comparada com acaricidas químicos, já que em estudos com abamectina, alquenol multimetílico e dicofol em algodoeiro, a redução aos 13 DAA alcançou 94% (Mariconi et al. 1987).

Em outro trabalho, bastante semelhante ao presente no que se refere às condições de avaliação, Silva et al. (1989) utilizando o produto químico Pyridathioben ® e Cascade, observaram redução de aproximadamente 90% após 14 DAA.

Os resultados encontrados pelos autores e o presente trabalho variam entre 28 e 24% respectivamente, embora não seja possível uma comparação estatística entre os trabalhos citados e o presente, fica evidente uma redução percentual.

A eficiência imediata dos produtos químicos é decorrente do seu modo de ação, já que a grande maioria os produtos químicos age diretamente no sistema nervoso e a atividade motora cessa quase que de imediato, as funções fisiológicas são afetadas levando à morte (Coutinho et al., 2005). Por outro lado, os fungos necessitam de um período de tempo maior para se desenvolverem e levar à morte do hospedeiro. Porém, cabe ressaltar que segundo o conceito de controle biológico aumentativo, as aplicações sucessivas de fungo contribuem para o aumento do potencial de inóculo no ambiente, aumentando sua eficácia ao longo do tempo (Alves et al., 2008). Os produtos químicos, ao contrário, com aplicações sequenciadas acabam por selecionar populações resistentes, dificultando cada vez mais o controle das pragas.

Além disso, os acaricidas químicos têm restrições em relação ao registro para todas as culturas em o ácaro ocorre (Agrofit 2014). Considerando que *P. latus* é uma espécie polífaga, os fungos entomopatogênicos se sobressaem, pois não apresentam restrições que possam impedir sua utilização em qualquer cultura, inclusive orgânicas, nas quais os químicos são proibidos (Gallo et al., 2002).

A porcentagem de eficiência alcançada na terceira avaliação de 41,4% somente vem a somar a potencialidade de controle do ácaro pelo fungo. Este percentual ainda pode ser aumentado com reaplicações, seguindo o conceito de incremento no controle biológico proposto por Alves (1998) e Alves et al. (2008). Além disso, a eficiência do controle biológico do ácaro pode aumentar se considerar que os fungos são seguros contra espécies de

ácaros predadores, de forma que são preservadas no agroecossistema, ao contrário do que se observa com os acaricidas químicos (Cavalcanti et al. 2008).

Com a falta de trabalhos na literatura referente a testes de fungos entomopatogênicos em condições de campo para controle de *P. latus*, este trabalho pode contribuir com inovação na pesquisa visando ao controle de ácaros e promover alternativas de controle de pragas de forma a mitigar os impactos da produção vegetal sobre os recursos naturais e na saúde do produtor e do consumidor.

Outro fator a ressaltar é que, tanto em condições de casa-de-vegetação quanto em condições de campo, as populações de *P. latus* se mantiveram abaixo da pré-avaliação nas plantas tratadas com fungo, enquanto nas testemunhas ouve uma elevação populacional crescente demonstrando que, mesmo que a redução populacional da praga não seja muito grande, o isolado apresenta grande potencial de controle de crescimento populacional (dentro do período de avaliação), principalmente em casa-de-vegetação onde o *P. latus* é citado como grande causador de danos em diversas culturas, entre elas a erva-mate, a qual não possui acaricida químico liberado para aplicação, o que deixa os produtores a mercê de técnicas alternativas de controle da praga.

Cabe apontar a importância de novos estudos onde possam ser avaliadas reavaliações do fungo na cultura, para que se possa avaliar o incremento do fungo no ambiente como técnica aumentativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, vol.18, p.265-267.

AGROFIT - Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. 2012. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

ALVES LFA; QUEIROZ DL. and ANDRADE DP. 2010. Damage characterization and control tactics to broad mite (*Polyphagotarsonemus latus* Banks), in Paraguay-tea plants (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). *Revista Brasileira de Biociências*, vol.8, p. 208-212.

ALVES RT. 2006. Produção, formulação e aplicação de fungos para o controle de pragas. In: OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MONERRAT, R. G. (Org.). Fundamentos para regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas. 1 Ed. Planaltina, DF. *Embrapa Cerrados*, p. 239-253.

ALVES RT. and FARIA M. 2010. Pequeno manual sobre fungos entomopatogênicos. *Embrapa Cerrados*, Planaltina 50 p.

ALVES SB. 1998. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES SB. (Ed.) *Controle microbiano de insetos*. 2. ed., Piracicaba: Fealq, 1163p.

ALVES SB; ALMEIDA JEM; MOINO Jr A. and ALVES LFA. 1998. Técnicas de laboratório. In: ALVES SB. (Ed.) *Controle microbiano de insetos*. 2. ed., Piracicaba: Fealq, 1163p.

ALVES SB; LOPES RB; VIEIRA AS. and TAMAI MA. 2008. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES SB; LOPES RB. (Ed) *Controle microbiano de pragas na América Latina*. vol. 14. Piracicaba: Fealq, 414p.

ASHRAF AM; AHMED MT; HANAFY ARI. and GAMAL MH. 2011. Biology and control of the broad mite *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae). *International Journal of Environmental Science and Engineering*. vol.1, p.26-34.

CAVALCANTI RS; REIS PR; JUNIOR AM; FALQUETO R; FRANCO RA. and CARVALHO TMB. 2008. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos a três espécies de ácaros em cafeeiro. *Coffee Science*. vol. 3, p. 68-75.

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

COUTINHO CFB; TAMINOTO ST; GALLI A; GARBRLINI GS; TAKAYAMA M; DO AMARAL RB; MAZO LH; AVACA LA. and MACHADO SAS. 2005. Pesticidas:

Mecanismos de ação, degradação e toxidez. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, vol.15, p. 62-75.

ECHER MM; FERNANDES MCA; RIBEIRO RLD. and PERACCHI AL. 2002. Avaliação de genótipos de *Capsicum* para resistência ao ácaro branco. *Horticultura Brasileira*, vol. 20, p. 217-221.

EMATER. 2000. Cultura do Feijão. Informação Tecnológica. p.1-7. Minas Gerais. Disponível em: <http://www.almanaquedocampo.com.br/imagens/files/feij%C3%A3o%20emater.pdf>.

FERREIRA DF. 2011. SISVAR: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* vol. 35, p. 1039-1042.

GALLO D; NAKANO O; SILVEIRA NETO S; CARVALHO RPL; BATISTA GC; BERTI FILHO E; PARRA JRP; ZUCCHI RA; ALVES SB; VENDRAMIN JD; MARCHINI LC; LOPES JRS. and OMOTO C. 2002. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, FEALQ. 920p.

HAJEK AE. and ST. LEGER RJ. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review Entomology*. vol. 39, p. 293-322.

HUMBER RA. 1997. Fungi: Identification. In: LACEY LA. (eds). *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press. p. 153-185.

LONDONO OPA; FLOREZ FJP; PARDEY EAB. and GARCIA MTG. 1992. Production em finca del hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Cenicafé: Avances Tecnicos*. vol. 182, p.11.

MORAES GJ and FLECHTMANN CHW. 2008. *Manual de Acarologia – Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil*. Ribeirão Preto: Ed. Holos. 308 p.

MORO LB; POLANCZYK RA; PRATISSOLI D; CARVALHO JR de and FRANCO CR. 2011. Potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *Tetranychus urticae* koch (Acari: Tetranychidae) em mamoeiro: efeito de cultivares sobre a patogenicidade. *Arquivos do Instituto Biológico*, vol. 78, p. 267-272.

NUGROHO I. and IBRAHIM YB. 2004. Bioassay of some entomopathogenic fungi against broad mite (*Polyphagotarsonemus latus* Banks). *International Journal of Agriculture e Biology*. vol. 6, p. 223-225.

OLIVEIRA RC; NEVES PMOJ. and ALVES LFA. 2004. Seleção de Fungos Entomopatogênicos para o controle de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). *Neotropical Entomology*. vol. 33, p. 347-351.

OLIVEIRA DGP. 2009. *Proposta de um protocolo para avaliação da viabilidade de conídios de fungos entomopatogênicos e determinação da proteção ao calor conferida a Beauveria*

bassiana e *Metarhizium anisopliae* pela formulação em óleo emulsionável. Piracicaba: USP-ESALQ. 89 p (Dissertação Mestrado).

PEÑA JE; OSBORNE LS. and DUNCAN RE. 1996. Potential of fungi as biocontrol agents of *Polyphagotarsonemus latus*. *Entomophaga*. vol. 41, p. 27-36.

POTRICH M; ALVES LFA; MERTZ NR and SILVA ERL. 2006. Avaliação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculinidae). *BioAssay*. vol. 12, p. 1-9.

ROSSI-ZALAF LS and ALVES SB. 2006. Susceptibility of *Brevipalpus phoenicis* to entomopathogenic fungi. *Experimental & Applied Acarology*. vol. 40, p. 37-47.

SARMENTO RA; RODRIGUES DM; FARAJI F; ERASMO EA; LEMOS F; TEODORO A; KIKUCHI WT; dos SANTOS GR. and PALLINI A. 2011. Suitability of the predatory mites *Iphiseiodes zuluaga* and *Euseius concordis* in controlling *Polyphagotarsonemus latus* and *Tetranychus bastosi* on *Jatropha curcas* plants in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, vol. 53, p. 203-214.

SHIMAZU M. 1994. Potential of the cerambycid-parasitic type of *Beauveria brongniartii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for microbial control of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae). *Applied Entomology and Zoology*. vol. 29, p. 127-130.

SILVA AL da; VELOSO VRS; GOMES MAN. and ROCHA MR da. 1989. Controle químico do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) em algodoeiro. *Anais da Escola Agrônômica e Veterinária*. vol.19, p. 17-21.

TAMAI MA; ALVES SB; ALMEIDA JEM. and FAION M. 2002. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, vol.69, p. 77-84.

VALENCIA JWA; BUSTAMANTE ALG; JIMÉNEZ AV; GROSSI-DE-SÁ MF. 2011. Cytotoxic activity of fungal metabolites from the pathogenic fungus *Beauveria bassiana*: an intraspecific evaluation of Beavericin production. *Curr microbial*. vol. 63, p. 306-312.

VIEIRA MR. and CHIAVEGATO LG. 1998. Biologia de *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) em algodoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 33, p.1437-1432.

VILAS BOAS AM; ANDRADE RM. and OLIVEIRA JV. 1996. Diversificação de meios de cultura para produção de fungos entomopatogênicos. *Journal of Invertebrate Pathology*. vol.39, p. 123-128.

VON DOHREN H. 2004. Biochemistry and general genetics of nonribosomal peptide synthetases in fungi. *Adv. Biochem. Engin. Biotechnol* vol. 88, p. 217-264.

XIAO G; YING SH; ZHENG P; WANG ZL; ZHANG S; XIE XQ; SHANG Y; LEGER RJST; ZHAO GP; WANG C; FENG MG. 2012. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Cientific Reports*, vol.2, p. 1-10.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Isolados de *Beauveria spp.*, utilizados, respectivos hospedeiros e local de origem.

ISOLADO	ESPÉCIE	HOSPEDEIRO	LOCALIDADE
Unioeste 1	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Astylus variegatus</i> (Coleoptera, Chrysomelidae)	Cascavel, PR,
Unioeste 2	<i>Beauveria sp.</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 4	<i>Beauveria sp.</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 5	<i>Beauveria sp.</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 25	<i>Beauveria bassiana</i>	Solo, Plantação Erva-mate	Cascavel, PR
Unioeste 26	<i>Beauveria bassiana</i>	Solo, Plantação Erva-mate	Cascavel, PR
Unioeste 36	<i>Beauveria bassiana</i>	Chrysomelidae SP	Cascavel, PR
Unioeste 37	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Bombyx mori</i> (Lepdoptera: Bombycidae)	Arapongas, PR
Unioeste 38	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Bombyx mori</i> (Lepdoptera: Bombycidae)	Ibaiti, PR
Unioeste 39	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Cosmopolites sordidus</i> (Coleoptera, Curculionidae)	São Miguel do Iguaçu, PR
Unioeste 40	<i>Beauveria bassiana</i>	Curculionidae SP	Cascavel, PR
Unioeste 41	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Astylus variegatus</i> (Coleoptera, Chrysomelidae)	Cascavel, PR
Unioeste 42	<i>Beauveria bassiana</i>	Erotylidae SP	Cascavel, PR
Unioeste 44	<i>Beauveria bassiana</i>	Pentatomidae SP	Toledo , PR
Unioeste 46	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Euschithus heros</i>	Cascavel, PR
Unioeste 47	<i>Beauveria bassiana</i>	Pentatomidae SP	Primavera do Leste, MT
Unioeste 48	<i>Beauveria sp.</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 49	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 53	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, pR
Unioeste 54	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 56	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Anthonomus grandis</i> (Coleoptera, Curculionidae)	Cascavel, PR
Unioeste 65	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Anthonomus grandis</i> (Coleoptera, Curculinidae)	Cascavel, PR
Unioeste 66	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Anthonomus grandis</i> (Coleoptera, Curculinidae)	Cascavel, PR
Unioeste 68	<i>Beauveria sp.</i>	<i>Alphitobius diaperinus</i> (Coleoptera, Tenebrionidae)	Pinhalzinho, SP
Unioeste 69	<i>Beauveria sp.</i>	<i>Hedypathes betulinus</i> (Coleoptera, Cerambycidae)	Ivai, PR
Unioeste 70	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Vatiga manihota</i> (Hemiptera, Tingidae)	Marechal C. Rondon, PR
Unioeste 71	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Bemisia tuberculata</i> (Hemiptera, Aleyrodidae)	Marechal C. Rondon, PR
Unioeste 75	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Vatiga manihotae</i> (Hemiptera, Tingidae)	Marechal C. Rondon, PR
Unioeste 76	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Diabrotica speciosa</i> (Coleoptera, Chysomelidae)	Marechal C. Rondon, PR
Unioeste 77	<i>Beauveria bassiana</i>	Pulgão coletado em Brassicas	Marechal C. Rondon, PR

Tabela 2: Porcentagem de mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *Polyphagotarsonemus latus* pulverizadas com suspensão de 1×10^8 conídios/mL de diferentes isolados de *Beauveria spp.* 3 DAA.

Tratamentos	Mortalidade confirmada
Unioeste 53	33,5 ± 2,17 a
Unioeste 39	26,6 ± 1,46 b
Unioeste 26	19,8 ± 0,95 c

CV = 9,16 %

CV= Coeficiente de variação; EPM= Erro padrão médio; Médias (±EPM) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste t ($p>0,05$)

Tabela 3: Crescimento vegetativo (diâmetro de colônia) e produção de conídios de diferentes isolados de *B. bassiana* em meio de cultura específico (ME) e arroz.

Isolado	Diâmetro médio de colônia (cm)	Produção de conídios/colônia	¹ Produção de conídios/cm ²	² Produção em Arroz
Unioeste 39	2,6 ± 0,07 a	2,33 ± 0,35 b	0,4 ± 0,06 b	1,7 ± 3,38 b
Unioeste 53	2,0 ± 0,02 b	26,2 ± 4,44 a	7,9 ± 1,43 a	1,6 ± 2,95 b
Unioeste 26	1,8 ± 0,09 b	0,2 ± 0,01 c	0,1 ± 0,00 c	3,1 ± 2,15 a

¹ Número médio de conídios por cm² × 10⁸; ² Número médio de conídios por g de arroz × 10⁹; Médias (±EPM) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis com comparação de Student-Newman-Keuls ($p>0,05$).

Tabela 4. Número médio de ácaros *Polyphagotarsonemus latus* vivos em folhas de feijoeiro, tratadas e não tratadas com suspensão de conídios do isolado Unioeste 53 (1×10^8 conídios/mL), em casa de vegetação. Cascavel, PR, janeiro a março/2014.

Tratamentos	Pré-avaliação	Avaliação 1	Avaliação 2	Avaliação 3	Avaliação 4
Testemunha	11,0 ± 0,54 Bb	12,9 ± 0,31 Ab (+17)	11,4 ± 1,01 Ab (+4)	17,3 ± 0,58 Aa (+57)	18,1 ± 0,49 Aa (+64)
Unioeste 53	13,2 ± 0,59 Aa	9,2 ± 0,30 Bb (-31)	4,9 ± 0,31 Bc (-62)	4,3 ± 0,40 Bc (-67)	4,2 ± 0,37 Bc (-68)

CV 1= 11,28%

CV 2= 11,11 %

CV= Coeficiente de variação; EPM= Erro padrão médio; Entre parênteses + = aumento percentual na população, - = redução percentual na população, quando comparados com a pré-avaliação; Médias (±EPM) seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Tabela 5: Número médio por tratamento de ácaros *Polyphagotarsonemus latus* vivos em folhas de feijoeiro, tratadas e não tratadas com suspensão de conídios do isolado Unioeste 53 (1×10^8 conídios/mL), em campo (Marechal Cândido Rondon, PR, janeiro a março de 2014).

	Pré-avaliação	Avaliação 1 (4 DAA)	Avaliação 2 (8 DAA)	Avaliação 3 (12 DAA)	Avaliação 4 (16 DAA)
Testemunha	16,1 ± 2,54 Aa	16,3 ± 1,85 Aa (+1)	15,5 ± 1,08 Aa (-7)	16,8 ± 0,64 Aa (+4)	17,7 ± 1,05 Aa (+10)
Unioeste 53	29,8 ± 5,80 Aa	22,0 ± 3,08 Ab (-26)	15,8 ± 2,47 Ab (-47)	9,9 ± 0,92 Ac (-67)	17,0 ± 0,81 Ab (-42)
Eficiência (%)	-85,0%	-35,1%	-2,1%	41,4%	3,7%

Entre parênteses + = aumento percentual na população, - = redução percentual na população, quando comparados com a pré-avaliação; Médias (\pm EPM) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon ($p > 0,05$); Médias (\pm EPM) seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Friedman ($p > 0,05$); Eficiência % = Porcentagem de eficiência no tempo (por avaliação) calculada pela fórmula de Abbott (1925).

LISTA DE FIGURAS

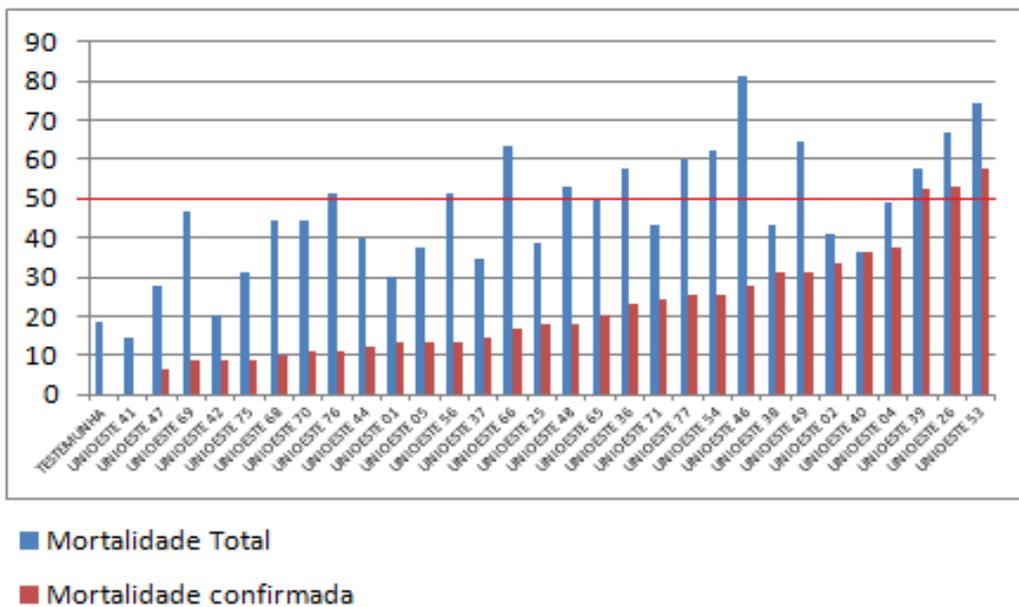


Figura 1: Porcentagem de mortalidade total e confirmada de fêmeas adultas de *Polyphagotarsonemus latus* 6 DAA de suspensão de conídios de *Beauveria spp.* na concentração de 1×10^8 conídios/mL.

NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF BIOLOGY

Finalidade e normas gerais

O Brazilian Journal of Biology publica resultados de pesquisa original em qualquer ramo das ciências biológicas. Estará sendo estimulada a publicação de trabalhos nas áreas de biologia celular, sistemática, ecologia (auto-ecologia e sinecologia) e biologia evolutiva, e que abordem problemas da região neotropical.

A revista publica somente artigos em inglês. Artigos de revisões de temas gerais também serão publicados desde que previamente propostos e aprovados pela Comissão Editorial.

Informações Gerais: Os originais deverão ser enviados à Comissão Editorial e estar de acordo com as Instruções aos Autores, trabalhos que não se enquadrem nesses moldes serão imediatamente devolvidos ao(s) autor(es) para reformulação.

Os trabalhos que estejam de acordo com as Instruções aos Autores, serão enviados aos assessores científicos, indicados pela Comissão Editorial. Em cada caso, o parecer será transmitido anonimamente aos autores. Em caso de recomendação desfavorável por parte de um assessor, será usualmente pedida a opinião de um outro. Os trabalhos serão publicados na ordem de aceitação pela Comissão Editorial, e não de seu recebimento.

Preparação de originais

O trabalho a ser considerado para publicação deve obedecer às seguintes recomendações gerais:

Ser digitado e impresso em um só lado do papel tipo A4 e em espaço duplo com uma margem de 3 cm à esquerda e 2 cm à direita, sem preocupação de que as linhas terminem alinhadas e sem dividir palavras no final da linha. Palavras a serem impressas em itálico podem ser sublinhadas.

O título deve dar uma idéia precisa do conteúdo e ser o mais curto possível. Um título abreviado deve ser fornecido para impressão nas cabeças de página.

Nomes dos autores – As indicações Júnior, Filho, Neto, Sobrinho etc. devem ser sempre antecedidas por um hífen. Exemplo: J. Pereira-Neto. Usar também hífen para nomes compostos (exemplos: C. Azevedo-Ramos, M. L. López-Rulf). Os nomes dos autores devem constar sempre na sua ordem correta, sem inversões. Não usar nunca, como autor ou co-autor

nomes como Pereira-Neto J. Usar *e, y, and, et* em vez de & para ligar o último co-autor aos antecedentes.

Os trabalhos devem ser redigidos de forma concisa, com a exatidão e a clareza necessárias para sua fiel compreensão. Sua redação deve ser definitiva a fim de evitar modificações nas provas de impressão, muito onerosas e cujo pagamento ficará sempre a cargo do autor. Os trabalhos (incluindo ilustração e tabelas). devem ser submetidos através do seguinte e-mail: bjb@bjb.com.br

Serão considerados para publicação apenas os artigos redigidos em inglês. Todos os trabalhos deverão ter resumos em inglês e português. Esses resumos deverão constar no início do trabalho e iniciar com o título traduzido para o idioma correspondente. O Abstract e o Resumo devem conter as mesmas informações e sempre sumariar resultados e conclusões.

Em linhas gerais, as diferentes partes dos artigos devem ter a seguinte seriação:

1ª página – Título do trabalho. Nome(s) do(s) autor(es). Instituição ou instituições, com endereço. Indicação do número de figuras existentes no trabalho. Palavras-chave em português e inglês (no máximo 5). Título abreviado para cabeça das páginas. Rodapé: nome do autor correspondente e endereço atual (se for o caso).

2ª página e seguintes – Abstract (sem título). Resumo: em português (com título); Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos.

Em separado - Referências, Legendas das figuras, Tabelas e Figuras.

As seguintes informações devem acompanhar todas as espécies citadas no artigo:

- **Para zoologia**, o nome do autor e da data de publicação da descrição original deve ser dada a primeira vez que a espécie é citada nos trabalhos;
- **Para botânica e ecologia**, somente o nome do autor que fez a descrição deve ser dada a primeira vez que a espécie é citada nos trabalhos.

O trabalho deverá ter, *no máximo*, 25 páginas, incluindo tabelas e figuras, em caso de Notes and Comments limitar-se a 4 páginas.

A seriação dos itens de Introdução e Agradecimentos só se aplicam, obviamente, a trabalhos capazes de adotá-la. Os demais artigos (como os de Sistemática) devem ser redigidos de acordo com critérios geralmente aceitos na área.

Referencias Bibliográficas:

1. Citação no texto: Use o nome e ano: Reis (1980); (Reis, 1980); (Zaluar e Rocha, 2000).

Há mais de dois autores usar *et al.*

2. Citações na lista de referências, em conformidade com a norma *ISO 690/1987*.

No texto, será usado o sistema autor-ano para citações bibliográficas (estritamente o necessário) utilizando-se o utilizando-se *and* no caso de 2 autores. As referências, digitadas em folha separada, devem constar em ordem alfabética. Deverão conter nome(s) e iniciais do(s) autor(es), ano, título por extenso, nome da revista (abreviado e sublinhado), volume, e primeira e última páginas. Citações de livros e monografias deverão também incluir a editora e, conforme citação, referir o capítulo do livro. Deve(m) também ser referido(s) nome(s) do(s) organizador(es) da coletânea. Exemplos:

LOMINADZE, DG., 1981. Cyclotron waves in plasma. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press. 206 p. International series in natural philosophy, no. 3.

WRIGLEY, EA., 1968. Parish registers and the historian. In STEEL, DJ. National index of parish registers. London: Society of Genealogists. p. 15-167.

CYRINO, JEP. and MULVANEY, DR., 1999. Mitogenic activity of fetal bovine serum, fish fry extract, insulin-like growth factor-I, and fibroblast growth factor on brown bullhead catfish cells - BB line. *Revista Brasileira de Biologia = Brazilian Journal of Biology*, vol. 59, no. 3, p. 517-525.

LIMA, PRS., 2004. Dinâmica populacional da Serra *Scomberomorus brasiliensis* (Osteichthyes; Scombridae), no litoral ocidental do Maranhã-Brasil. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. 45 p. Dissertação de Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura.

WU, RSS., SHANG, EWV. and ZHOU, BS., 2006. Endocrine disrupting and teratogenic effects of hypoxia on fish, and their ecological implications. In *Proceedings of the Eighth International Symposium on Fish Physiology, Toxicology and Water Quality, 2005*. Georgia, USA: EPA. p. 75-86.

Para outros pormenores, veja as referências bibliográficas em um fascículo.

A Revista publicará um Índice inteiramente em inglês, para uso das revistas internacionais de referência.

As provas serão enviadas aos autores para uma revisão final (restrita a erros e composição) e deverão ser devolvidas imediatamente. As provas que não forem devolvidas no tempo solicitado - 5 dias - terão sua publicação postergada para uma próxima oportunidade, dependendo de espaço.

Material Ilustrativo – Os autores deverão limitar as tabelas e as figuras (ambas numeradas em arábicos) ao estritamente necessário. No texto do manuscrito, o autor indicará os locais onde elas deverão ser intercaladas.

As tabelas deverão ter seu próprio título e, em rodapé, as demais informações explicativas. Símbolos e abreviaturas devem ser definidos no texto principal e/ou legendas.

Na preparação do material ilustrativo e das tabelas, deve-se ter em mente o tamanho da página útil da REVISTA (22 cm x 15,0 cm); (coluna: 7 cm) e a idéia de conservar o sentido vertical. Desenhos e fotografias exageradamente grandes poderão perder muito em nitidez quando forem reduzidos às dimensões da página útil. As pranchas deverão ter no máximo 30 cm de altura por 25 cm de largura e incluir barra(s) de calibração.

As ilustrações devem ser agrupadas, sempre que possível. A Comissão Editorial reserva-se o direito de dispor esse material do modo mais econômico, sem prejudicar sua apresentação.

Disquete – Os autores são encorajados a enviar a versão final (e somente a final), já aceita, de seus manuscritos em disquete. Textos devem ser preparados em Word for Windows e acompanhados de uma cópia idêntica em papel.

Recomendações Finais: Antes de remeter seu trabalho, preparado de acordo com as instruções anteriores, deve o autor relê-lo cuidadosamente, dando atenção aos seguintes itens: correção gramatical, correção datilográfica (apenas uma leitura sílaba por sílaba a garantir), correspondência entre os trabalhos citados no texto e os referidos na bibliografia, tabelas e figuras em arábicos, correspondência entre os números de tabelas e figuras citadas no texto e os referidos em cada um e posição correta das legendas.