



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE
Glycaspis brimblecombei Moore, 1964 (Hemiptera: Psyllidae)**

THAYANNE LOER CARNIELLI



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

THAYANNE LOER CARNIELLI

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS NO
CONTROLE BIOLÓGICO DE *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera:
Psyllidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador
Prof. Dr. Genésio Tâmara Ribeiro

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

C289a Carnielli, Thayanne Loer.
Avaliação da eficiência de fungos entomopatogênicos no controle biológico de *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera: psyllidae) / Thayanne Loer Carnielli; orientador Genésio Tâmara Ribeiro. – São Cristóvão, 2018.
42 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade)– Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Eucalipto – Doenças e pragas. 2. Fungos como agentes no controle biológico de pragas. 3. Inseticidas. I. Ribeiro, Genésio Tâmara, orient. II. Título.

CDU 632.981

THAYANNE LOER CARNIELLI

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO
CONTROLE BIOLÓGICO DE *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera:
Psyllidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Prof. Dr. Júlio César Melo Poderoso
Secretaria Municipal de Meio Ambiente e
Desenvolvimento Rural
Prefeitura de Rosário do Catete

Prof. Dr. Maria de Fátima Souza dos Santos
de Oliveira
Universidade Estadual de Santa Cruz

Prof. Dr. Genésio Tâmara Ribeiro
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Importância do cultivo de eucalipto	3
2.2 <i>Glycaspis brimblecombei</i> Moore 1964 (Hemiptera: Psyllidae)	4
2.3 Controle do <i>Glycaspis brimblecombei</i>	5
2.3.1 Controle Químico	5
2.3.2 Controle Biológico de <i>Glycaspis brimblecombei</i>	6
2.3.3 Fungos entomopatogênicos	7
2.3.3.1 <i>Isaria fumosorosea</i> (Hypocreales: Clavicipitaceae)	8
2.3.3.2. <i>Beauveria bassiana</i> (Hypocreales: Cordycipitaceae)	8
2.3.3.3 <i>Metarhizium</i> sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae)	9
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
4. CAPÍTULO 1: CONTROLE MICROBIANO DE <i>Glycaspis brimblecombei</i> Moore 1964 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) UTILIZANDO FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS.....	16
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	17
4.1. Introdução	18
4.2. Material e Métodos	19
4.2.1. Bioensaio de patogenicidade em condições controladas	19
4.2.1.1. Viabilidade e mortalidade confirmada corrigida	19
4.2.1.2. Curva de sobrevivência e TL ₅₀ para insetos sem a concha	21
4.2.2. Bioensaio em campo	21
4.2.2.1. Mortalidade de insetos	21
4.2.2.2. Flutuação populacional	22
4.3. Resultados	23
4.3.1. Bioensaio de patogenicidade em condições controladas	23
4.3.1.1. Viabilidade e mortalidade confirmada corrigida	23
4.3.1.2. Curva de sobrevivência e TL ₅₀ para insetos sem a concha	26
4.3.2 Bioensao em campo	28
4.3.2.1 Flutuação populacional	28
4.3.2.2 Mortalidade de Insetos	29
4.4. Conclusões.....	31
4.5. Referências Bibliográficas.....	32

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura		Página
1	Aspectos da arena estabelecida em placas de petri e utilizada nos bioensaios com <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), evidenciando as conchas em pedaços de folhas de eucalipto.	20
2	Aspectos da área experimental e da avaliação de <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae) em campo sendo: a) galho isolado com saco em tecido voil e; b) cartela adesiva mantida nas parcelas para avaliação.	23
3	Germinação dos conídeos dos fungos entomopatogênicos, após 12 horas de incubação em BOD à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de $67\% \pm 10\%$ com fotofase de 12 horas. A) <i>Metarhizium anisopliae</i> (Ma2), B) <i>Metarhizium robertsii</i> (Mr2), C) <i>Beauveria bassiana</i> (Bb7), C1) <i>Beauveria bassiana</i> (Bb8), D) <i>Isaria fumosorosea</i> (If1).	24
4	<i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae) infectados e mortos por isolados de fungos entomopatogênicos avaliados em condições controladas de laboratório: a) <i>Metarhizium robertsii</i> (Mr2), b) <i>Metarhizium anisopliae</i> (Ma2), c) <i>Beauveria bassiana</i> (Bb8), d) <i>Isaria fumosorosea</i> (If1) e e) <i>Beauveria bassiana</i> (Bb7).	25
5	Curva de sobrevivência, análise Kaplan-meier, de <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), sem a concha protetora, após a pulverização de isolados de fungos entomopatogênicos. Isolado: 1 = Mr2, 2 = Bb7, 3 = Bb8, 4 = If1, 5 = Ma2 e 6 = Testemunha.	27
6	Percentual de redução da população de psilídeo-de-concha, <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), em diferentes estádios ninfais, em condições de campo.	28
7	Percentual de redução da população de insetos adultos de psilídeo-de-concha, <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), em condições de campo	29
8	Médias da eficiência da mortalidade dos tratamentos no controle de <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), em condições de campo.	30

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela	Página
1 Relação dos tratamentos e respectivas concentrações que foram avaliados para o controle de <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae) em laboratório.	19
2 Relação dos tratamentos, produto ou fabricante, natureza do tratamento e princípio ativo que foram aplicados em <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), em plantação de eucalipto, na região de Esplanada, Bahia.	21
3 Relação da viabilidade dos isolados utilizados nos experimentos em condições controladas e de campo, aplicados em <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae).	23
4 Número médio de <i>Glycaspis brimblecombei</i> mortos pela aplicação dos isolados em função de cada período de avaliação (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: $67 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h).	26
5 Estimativa da TL_{50} dos isolados de fungos entomopatogênicos avaliados nesse estudo com <i>Glycaspis brimblecombei</i> (Hemiptera: Psyllidae), sem a concha protetora.	27

RESUMO

CARNIELLI, Thayanne Loer. **Avaliação da eficiência de fungos entomopatogênicos no controle biológico de *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964 (Hemiptera: Psyllidae).** São Cristóvão: UFS, 2018. 43p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade). Genésio Tâmara Ribeiro – UFS (Orientador).

Em plantações de eucalipto ocorrem pragas nativas e exóticas, sendo que as pragas exóticas podem causar maiores danos que geram prejuízos econômicos, principalmente pela ausência de inimigos naturais locais para controlar sua população. Entre as pragas que ocorrem em plantações de eucalipto, o inseto *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae), conhecido como Psilídio-de-concha-do-eucalipto, foi detectado pela primeira vez no Brasil em 2003, no Estado de São Paulo. Essa praga pode causar secamento de ponteiros e a redução da atividade fotossintética. Em seu controle têm sido utilizadas formulações químicas sintéticas, porém esse tipo de alternativa tem sido repensado por ser tóxico e prejudicial à saúde e ao meio ambiente. Assim, a utilização de fungos entomopatogênicos pode ser uma alternativa para o seu controle. O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência de fungos entomopatogênicos no controle biológico de *G. brimblecombei* em laboratório e em plantações comerciais de eucalipto. Em laboratório foram utilizados cinco isolados de fungos entomopatogênicos, sendo eles: *Isaria fumosorosea*, dois isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium robertsii* e *Metarhizium anisopliae*, além da testemunha, com tempo de avaliação de 7 dias. Em campo foram utilizados dois fungos (*I. fumosorosea* e *B. bassiana*, procedentes do banco de germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros), dois fungos comerciais (Boveril e Metarril, produtos comerciais formulados a partir de conídios dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*), um inseticida químico (composto de Bifentrina) e uma testemunha (água + espalhante adesivo), com tempo de avaliação de 3 dias. Os isolados utilizados em campo e em condições controladas foram repicados em placas de petri e mantidos em B.O.D. à temperatura de $26 \pm 10\%$, com fotofase de 12 horas. Foram realizadas análises de patogenicidade para determinar os isolados mais eficientes na mortalidade de *G. brimblecombei*. A mortalidade de *G. brimblecombei* diferiu entre os tratamentos com os isolados de fungos mantidos em laboratório, *M. robertsii* apresentou o melhor resultado com redução populacional de 100% em dois dias. Em campo, dos tratamentos biológicos, *I. fumosorosea* foi mais eficiente com redução populacional 83,56% em menos de três dias, seguido de *B. bassiana* com redução populacional de 51,53%. Os fungos *I. fumosorosea*, *B. bassiana*, *Metarhizium robertsii* e *Metarhizium anisopliae* apresentaram resultados eficientes no controle de *G. brimblecombei* em condições controladas e de campo e são potencialmente viáveis para utilização em programas de Manejo Integrado de *G. brimblecombei*.

Palavras-chave: Eucalipto; Bioinseticidas; Praga exótica.

ABSTRACT

CARNIELLI, Thayanne Loer. **Evaluation of efficiency of entomopathogenic fungi in the biological control of *Glycaspis brimblecombei* Moore 1964 (Hemiptera Psyllidae).** São Cristóvão: UFS, 2018. 43p (Thesis - Master of Science on Agriculture and Biodiversity).

Eucalyptus plantations are affected by native and exotic pests. The latter can cause greater damage, leading to economic losses due to the lack of local natural enemies to control the population. Among the pests that attack eucalyptus plantations, the insect *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae), known as Eucalyptus redgum lerp psyllid, was first detected in Brazil in 2003, in the state of São Paulo. The insect damaged eucalyptus plantations, causing die-back and reduction in the photosynthetic activity. Synthetic chemical formulations have been used to control this insect; however, a new solution should be developed since these formulations are toxic and harmful to the human health and environment. Entomopathogenic fungi can be used as an alternative control method. The present study aimed to evaluate the efficiency of entomopathogenic fungi as a biological control method for *G. brimblecombei*, both in the laboratory and in commercial eucalyptus plantations. The laboratory trial used five entomopathogenic fungi isolates (*Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium robertsii*, and *Metarhizium anisopliae*) and a control treatment, with a seven-day evaluation period. The field trial used two fungi (*I. fumosorosea* and *B. bassiana*, from the germplasm bank of Embrapa Coastal Tablelands), two commercial fungi (Boveril and Metarril, which are commercial products formulated using conidia from the fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae*), a chemical insecticide (composed of Bifenthrin), and a control treatment (water + spreader sticker), with a three-day evaluation period. The isolates used in the field and under controlled conditions were replicated in Petri dishes and kept in a B.O.D. at $26 \pm 10\%$, with a 12-hour photoperiod. Pathogenicity analyses were performed to determine the most efficient isolates in the mortality of *G. brimblecombei*. The mortality of *G. brimblecombei* differed between treatments whose fungi isolates were kept in the laboratory; *M. robertsii* presented the best result, with 100% population reduction in two days. Regarding the field trial, treatments *I. fumosorosea* and *B. bassiana* had the best results, with an 83.56% and 51.53% population reduction, respectively, in less than three days. The fungi *I. fumosorosea*, *B. bassiana*, *M. robertsii*, and *M. anisopliae* showed satisfactory results for the efficient control of *G. brimblecombei* in the field and under controlled conditions. Therefore, these fungi are a potentially viable alternative for use in Integrated Management Programs of *G. brimblecombei*.

Keywords: Eucalyptus; Bioinsecticides; Exotic pest.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil lidera o ranking global de produtividade em plantações de eucalipto que ocupam 5,7 milhões de hectares, sendo que nos últimos cinco anos cresceu 2,4% ao ano, representando cerca de 4,5% do PIB Industrial. Em projeções mais recentes, até o ano de 2050, a população deverá atingir cerca de 9,1 bilhões de pessoas. Esse número resultará em uma demanda de 250 milhões de hectares adicionais de plantações florestais no mundo (IBÁ, 2017).

No entanto, essa produtividade vem sendo ameaçada pela presença de pragas nativas e exóticas, que dependendo do dano provocado ou do nível de infestação, podem elevar os custos de proteção florestal e podem inviabilizar o sortimento da madeira, causando prejuízo econômico (WINGFIELD et al., 2013).

O *G. brimblecombei* é uma praga exclusiva do eucalipto e demonstra predileção por *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus tereticornis*, *Eucalyptus diversicolor*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus sideroxylon* e *Eucalyptus rudis*. Em *E. camaldulensis* a mortalidade variou entre 10 a 15% das árvores, após um ano de infestação (WILCKEN et al., 2010).

O primeiro registro de ocorrência de *G. brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae), conhecido popularmente por psilídeo-de-concha-do-eucalipto, foi em Mogi-Guaçu, São Paulo, no ano de 2003. Esse inseto praga possui hábito de alimentação por sucção, sendo que a intensa atividade de sucção pelas ninfas desse inseto pode causar desfolha da parte apical das árvores, principalmente em plantações jovens. Além disso, por formar concha com uma substância açucarada, favorece a ocorrência de fumagina nas folhas e ramos das plantas atacadas (WILCKEN et al., 2003; 2005).

Atualmente, as formas de controle utilizadas para reduzir a população de *G. brimblecombei* em plantações de eucalipto são controle químico e biológico. O controle químico com a utilização de inseticidas, sistêmico a base de acetamiprido (Mospilan WG®), do grupo químico dos neonicotinóides e o inseticida de contato à base de etofenproxi (Safety®), do grupo químico de éter difenílico, foram registrados no ano de 2017 para o controle dessa praga. O controle biológico é feito com a liberação de insetos predadores e parasitoides, com destaque para o *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae), percevejo predador que consegue levantar a concha protetora do inseto para se alimentar dele, e o parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae), pequena vespa que consegue perfurar a concha protetora para depositar seus ovos nas ninfas de *G. brimblecombei*.

A busca por novas alternativas para o controle de insetos pragas tem crescido, considerando o aumento do interesse em minimizar os impactos negativos no meio ambiente e nas pessoas, devido ao uso de inseticidas químicos. Dentre essas novas alternativas, o controle biológico utilizando entomopatógenos tem se destacado, em especial, o controle microbiano.

Os fungos foram os primeiros patógenos a serem utilizados no controle microbiano de insetos por possuir uma grande variabilidade genética, característica considerada como uma das principais vantagens desses organismos para a evolução e adaptação do organismo às mudanças do meio ambiente. São altamente virulentos e a maioria são especialistas em penetração no corpo do inseto por via do tegumento; essa é outra vantagem desse grupo de organismos, sendo que outros grupos de patógenos só conseguem penetrar nos insetos via oral, através do mesêntero (ALVES, 1998).

O controle microbiano tem se tornado uma alternativa com destaque no controle biológico de pragas no Brasil, especialmente utilizando os fungos *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill.), *Metarhizium* sp., (Metsch), *Isaria fumosorosea* (Matsushima) e *Fusarium* spp. (LORENCETTI, 2013; SOLIMAN, 2014; VELOZO, 2015; SANTOS, 2016).

Diante disso, o presente trabalho objetivou avaliar em condições controladas e de campo a ação de fungos entomopatogênicos para o controle microbiano do psilídeo-de-concha-do-eucalipto, *G. brimblecombei*, visando disponibilizar alternativas eficientes e viáveis economicamente e ambientalmente para plantações comerciais de eucalipto no Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância do cultivo de eucalipto

O Brasil possui uma área de 7,84 milhões de hectares de florestas plantadas, que responde por 91% de toda madeira produzida para fins industriais (IBÁ, 2017).

As plantações florestais visam atender a demanda crescente por produtos e subprodutos provenientes de madeira. Essas plantações, além de produzirem riqueza, auxiliam na redução dos impactos ambientais causados por desmatamento irregular em florestas nativas ao reduzirem a pressão sobre essas áreas nativas e ao beneficiar comunidades vizinhas às plantações, favorecendo o desenvolvimento social e econômico (IBÁ, 2015).

Considerada atualmente referência em produtividade no mundo, as plantações de árvores no Brasil destinam-se à produção de celulose, papel, painéis de madeira, pisos, laminados, carvão vegetal, biomassa e outros, gerando centenas de produtos e subprodutos. O setor ainda investe em alternativas para transformar rejeitos, subprodutos e resíduos obtidos do processo de extração de celulose da madeira em produtos inovadores e renováveis. A expectativa futura é de 100% de aproveitamento da floresta com a possibilidade de novos usos para a lignina, produção de etanol de segunda geração, bioplásticos e nanofibras (IBÁ, 2017).

Em 2016, com produtividade média de $35,7 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$, o Brasil liderou o ranking global de produtividade florestal com as plantações de eucalipto, utilizando principalmente híbridos provenientes de intenso programa de melhoramento genético (WINCKLER et al., 2009; BROOKER; KLEINIG, 2006; IBÁ, 2017). Os valores de incremento médio anual podem variar de 40 a $45 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ de madeira com casca, oscilando numa amplitude de 25 a $60 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$, a se considerar o material genético utilizado e as condições edafoclimáticas (GONÇALVES et al., 2014).

Existem mais de 900 espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*, todas de origem na Austrália, Nova Guiné e Indonésia e algumas delas foram introduzidas no Brasil na segunda metade do século XIX. As plantações de eucalipto até o ano de 2017 totalizaram 5,7 milhões de hectares, correspondendo a 72,7% das florestas plantadas do país.

Existem alguns fatores responsáveis pela redução da produtividade em plantações de eucalipto, entre eles os fatores bióticos representados pela ocorrência de pragas ou doenças são os mais expressivos (WINGFIELD et al., 2013).

Dentre os insetos pragas nativos, as formigas cortadeiras são os mais importantes pois, se não controlados adequadamente, inviabilizam plantios e plantações (ZANETTI et al., 2014). À semelhança das formigas cortadeiras, os insetos pragas exóticos também se

constituem sério problema às plantações de eucalipto, em especial devido a ausência de inimigos naturais nativos, necessitando assim de métodos alternativos de controle (WILCKEN et al., 2003).

2.2 *Glycaspis brimblecombei* (Moore 1964) (Hemiptera: Psyllidae)

Dentre as pragas exóticas hoje estabelecidas no Brasil em plantações de eucalipto, se destaca o *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae), conhecido popularmente como Psilídio-de-concha-do-eucalipto, originário da Austrália. Esse inseto foi detectado pela primeira vez em 2003, no Estado de São Paulo, Brasil, danificando plantações de eucalipto devido a sucção contínua de seiva e, consequentemente, ao secamento de ponteiros, redução da atividade fotossintética e diminuição do crescimento de árvores. Por produzir uma substância açucarada, pode também favorecer o aparecimento de pragas secundárias ou o desenvolvimento de fumagina, um fungo saprofítico (WILCKEN et al., 2003).

Os psilídeos-de-concha são semelhantes a pequenas cigarrinhas e possuem hábito sugador. Pertencem a ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha e família Psyllidae. O gênero *Glycaspis* possui diversidade de espécies totalizando 127 já descritas (GALLO et al., 2002).

O *G. brimblecombei* apresenta cinco estádios ninfais com duração de 12 a 18 dias que podem ser reconhecidos pela estrutura e quantidade de seguimentos antenais. As ninfas possuem coloração amarelada nos três primeiros ínstar e cor amarelo esverdeado com abdômen escuro nos dois últimos ínstar. São achatadas dorso ventral, as antenas apresentam de três a nove artículos antenais dependendo do ínstar de desenvolvimento. Assim que eclode do ovo, a ninfa de primeiro ínstar caminha sobre a folha a procura de nervuras foliares, uma vez fixada no local propício introduz seu estilete na folha até atingir a seiva, podendo se locomover durante a fase ninfal e construir uma nova concha ou ficar imóvel até a fase adulta. Após a alimentação inicial começa a produção da secreção açucarada para a formação da concha. A concha apresenta formato cônico e coloração branca (SÁNCHEZ, 2003; WINCKLER et al.; 2009).

Apesar de ser observado atacando diversas espécies e híbridos de *Eucalyptus*, a viabilidade ninfal é maior em *E. camaldulensis* (74%) seguido pelo *E. tereticornis* (71%), porém, em *Corymbia citriodora* a mortalidade pode ser de até 100% das ninfas ainda no primeiro ínstar (WINCKLER et al., 2009).

Os adultos dessa espécie vivem em média de 6 a 15 dias, apresentam entre 1 e 2 mm de comprimento, os machos apresentam coloração verde e as fêmeas podem variar do verde

ao vermelho. As antenas são filiformes com 10 artículos. As fêmeas geralmente são maiores que os machos em sua fase adulta, podendo depositar de 46 a 280 ovos durante sua vida dependendo da estação do ano e das condições climáticas. O período de eclosão é de 10 a 20 dias, os ovos são de coloração alaranjada e ovopositados nas folhas abertas (SÁNCHEZ, 2003).

Adultos e ninfas de *G. brimblecombei* possuem aparelho bucal sugador e alimentam-se exclusivamente do floema de eucalipto por meio de sucção, apresentam predileção por brotações e folhas novas. Provocam descoloração de folhas, perda foliar, redução no crescimento, morte de ramos principalmente os mais jovens e induz o aparecimento de fumagina (RAMIREZ, 2003). Em plantações comerciais essa praga acarreta em redução no volume de madeira, atraso do corte final e conseqüentemente aumento no custo de produção (IÑIGUEZ-HERRERA, 2001).

2.3 Controle do *Glycaspis brimblecombei*

Apesar das possibilidades de utilização do controle químico e de espécies e híbridos de eucalipto resistentes, o controle biológico é, dentre as técnicas para o controle de *G. brimblecombei* disponíveis, a que se apresenta como a mais viável.

2.3.1 Controle Químico

Há muitos anos, o principal meio de controle de insetos praga tem sido o uso de formulações químicas sintéticas, mas esse tipo de alternativa tem sido repensado por ser altamente tóxico e prejudicial à saúde e ao meio ambiente, por não ser seletivo, eliminando também inimigos naturais, além de favorecer o aparecimento de pragas secundárias e aumentar a resistência das pragas aos produtos utilizados (MARQUES et al., 2004; PACHECO et al., 1990).

Atualmente o inseticida sistêmico a base de acetamiprido (Mospilan WG®), do grupo químico dos neonicotinóide e o inseticida de contato à base de etofenproxi (Safety®), do grupo químico de éter difenílico, estão registrados para controle do *G. brimblecombei*. Ambos são classificados como medianamente tóxico (AGROFIT, 2018).

Embora haja o registro de produtos, especificamente para o psílideo-de-concha não é recomendado o uso de inseticidas de contato porque as ninfas apresentam pouca mobilidade e são protegidas pela carapaça em formato de concha. Os produtos sistêmicos são mais recomendados e adequados. Ainda assim, esses produtos são de custo elevado e necessitam no mínimo de três aplicações por ano, devido ao seu efeito ser considerado temporário (WILCKEN et al., 2003; SÁ; WILCKEN, 2004).

2.3.2 Controle Biológico de *Glycaspis brimblecombei*

No Brasil, algumas espécies de inimigos naturais nativos ou exóticos apresentam potencial para utilização no controle biológico do psilídeo-de-concha. Dentre os predadores tem-se: *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae), *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae), *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae), *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), *Hyppodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) e *Ocyptamus* sp. (Diptera: Syrphidae); dentre os parasitóides *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae); além de outros tipos de inimigos naturais, como aranhas e fungos entomopatogênicos (SANTANA et al., 2004).

Dentre os predadores, percevejos do gênero *Atopozelus* são nativos das Américas e possuem cinco espécies descritas, dentre elas apenas três foram registradas no Brasil. Destes, *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae), que é um percevejo predador, foi relatado em estudos na predação de *G. brimblecombei* em plantações de eucalipto infestados com essa praga.

Esse percevejo apresenta cinco instares ninfais e seu ciclo médio de vida é de 120 dias para fêmeas e 92 dias para machos e podem alimentar-se de *G. brimblecombei* desde o primeiro estágio ninfal. As fêmeas e machos adultos medem em média de 9,6 e 8,81mm respectivamente, apresentam coloração verde com duas faixas de cor marrom-clara nas fêmeas e os machos exibem uma mancha dorsal de cor marrom-escura e bordas laterais verdes (ELKINS, 1954; MELO et al., 2004; DIAS, 2009).

Os *A. opsimus* são atraídos por substâncias açucaradas excretadas por algumas espécies de insetos, no caso do *G. brimblecombei*, o predador é atraído pela concha que protege as ninfas, composta por excreção açucarada (HOLLOBLER; WILSON, 1990; DELCLARO; OLIVEIRA, 2000).

O parasitóide *P. bliteus* é nativo da Austrália e foi detectado no Brasil em novembro de 2003, parasitando o psilídeo-de-concha, em plantações de eucalipto, na região de Piracicaba, São Paulo e posteriormente também foi identificado nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Paraná (BERTI FILHO et al., 2003; FERREIRA FILHO et al., 2008).

O *P. bliteus* é uma vespa nativa da Austrália, com 1 a 2mm de comprimento e é conhecido por ser um parasitóide exclusivo do *G. brimblecombei*. O ciclo biológico é de 21 a 35 dias, dependendo das condições ambientais, podendo parasitar em média 17 ninfas do *G. brimblecombei* (GALLO et al., 2002; GARCIA et al., 2011).

Populações de *P. bliteus* foram importadas do México visando aumentar a capacidade de adaptações às condições climáticas do Brasil, bem como aumentar a variabilidade genética na criação em larga escala desse parasitóide em laboratório. Sua liberação é feita para obtenção do equilíbrio populacional em plantações de eucalipto sob ataque de *G. brimblecombei* (WILCKEN et al., 2005).

A porcentagem de parasitismo do *P. bliteus* em três espécies de eucalipto foi de 47,3, 48,3e 49,6%, respectivamente para *E. tereticornis*, *E. camaldulensis* e *E. grandis* (GARCIA et al., 2011).

Na Austrália, larvas da mosca *Eristalinus taeniops* (Diptera: Syrphidae), larvas de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) e joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae) são relatadas como predadores generalista de importância para o controle biológico, incluindo o *G. brimblecombei* (WILCKEN et al., 2003).

Nos EUA, o controle biológico, com a introdução de *P. bliteus*, atingiu níveis de até a 80%, indicando ser esse parasitoide uma forma de controle muito eficaz e promissora (SÁ; WILCKEN, 2004).

No México, em locais com melhores condições de adaptabilidade, esse parasitoide apresenta viabilidade de até 92%, porém em estudos foram observadas viabilidades variando entre 7 e 92%, evidenciando a importância da condição climática ideal (GARCIA et al., 2011).

2.3.3 Fungos entomopatogênicos

Apesar do elevado potencial de utilização dos parasitoides e dos predadores, a utilização de fungos entomopatogênicos pode ser uma alternativa viável para o controle biológico de *G. brimblecombei*, pois sua eficácia é elevada e com produção e aplicação simples. Além disso, os fungos podem ser usados isoladamente ou integrados com outros métodos de controle, como os inseticidas naturais de origem vegetal, feromônios e variedades de plantas resistentes a insetos (LOURENÇÃO et al., 1993).

No Brasil, mais de 20 gêneros de fungos entomopatogênicos ocorrem naturalmente no ambiente e causam doenças em insetos, levando-os a morte. São conhecidos ao todo 90 gêneros com mais de 700 espécies, sendo que naturalmente 80% das doenças são causadas por estes agentes etiológicos. Os gêneros de maior importância são *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Nomurea*, *Aschersonia*, *Hirsutella*, *Paecilomyces* e *Entomophora*, todos da classe Deuteromycetes (ALVES, 1986; SHAH; PELL, 2003; GANDARILLA-PACHECO et al., 2013).

O controle biológico com fungos entomopatogênicos mostra-se um método interessante, entretanto, apresenta maior viabilidade em ambientes com umidade relativa

acima de 60%. A principal via de entrada do fungo entomopatogênico é através de contato com o tegumento do inseto (HOLDER; KEYHANI, 2005).

Os insetos infectados por fungos entomopatogênicos apresentam sintomas como manchas escuras pelo corpo, perda da coordenação dos movimentos, paralisia da alimentação em geral. Quando o fungo coloniza todo o interior do inseto, ele assume uma coloração esbranquiçada e, em seguida, inicia o processo de esporulação externa, devido ao crescimento dos micélios, sendo que a partir desse momento o inseto assume a cor da espécie do fungo em questão (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2006).

No Brasil, o controle de diversos insetos praga tem sido efetuado com os fungos entomopatogênicos, em especial com espécies de *Isaria*, *Beauveria* e *Metarhizium*.

2.3.3.1 *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Clavicipitaceae)

O fungo *Isaria fumosorosea* foi detectado em gorgulho da beterraba na Ucrânia e é um saprófita, encontrado no solo, nas plantas e no ar. Os insetos com maior susceptibilidade de contaminação por esse fungo são: gorgulhos, besouros-do-solo, besouros, pulgões de plantas, moscas brancas, psilídios, vespas, cupins, tripes, e uma grande variedade de borboletas e mariposas. O fungo apresenta coloração rosa ou púrpura (SMITH, 1993; WRIGHT et al., 2008; ZIMMERMANN, 2008)

Espécies de *Isaria* têm se destacado no controle biológico de pragas, principalmente em *Bemisia tabaci* (mosca branca), através da utilização de linhagens de *I. fumosorosea*. Esse entomopatógeno foi encontrado também ocorrendo naturalmente em *Diaphorina citri*, na Flórida e no Brasil, infectando ninfas e adultos em condições de campo e semi-campo (LEZAMA-GUTIÉRREZ et al., 2012).

O fungo é de fácil obtenção e replicação em laboratório, produz grande quantidade de inóculo em meios sólidos e não são repelentes, facilitando assim a disseminação entre os indivíduos (MEIKLE et al., 2005; WRIGHT et al., 2008; YANAGAWA et al., 2008).

Isolados de *Isaria* spp. testados apresentaram viabilidade superior a 95%, demonstrando alta capacidade germinativa desse gênero (PASSOS et al., 2014). A mortalidade de *Coptotermes gestroi*, obtida utilizando isolados de *Isaria farinosa*, *Isaria javanica* e *I. fumosorosea*, foi superior a 70%, enquanto na testemunha, foi inferior a 10%.

2.3.3.2. *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae)

É um fungo saprófita e o mais encontrado na superfície de insetos coletados em amostras de solo. Para germinação de conídios e crescimento de micélio, possuem exigências nutricionais a partir de fontes de nitrogênio, carbono, quitina e glucose, que são

indispensáveis para a formação das estruturas e penetração do fungo no exoesqueleto do inseto (SMITH; GRULLA, 1981; ALVES, 1998).

A utilização de um produto comercial formulado à base de *B. bassiana*, chamado Boverin, tornou esse fungo internacionalmente conhecido pela utilização desse produto comercial pela União Soviética para o controle do besouro-do-colorado (*Leptinotarsa decemlineata*) (IGNOFFO et al., 1975).

Em estudos realizados em laboratório e em campo, *B. bassiana* apresentou alta eficiência, indicando potencial para utilização no controle biológico, desde que exista inóculo em quantidade suficiente para induzir o processo da doença. (FERNANDES et al., 1985, ROSA et al., 2000). Existem relatos de infecção de 20% a 90% da broca-do-café em campo por *B. bassiana*, diante disso, vários autores demonstram a capacidade infecção desse fungo no controle da broca-do-café (BUSTILLO, 1995; GONZÁLEZ-GARCIA et al., 1993; ROSA et al., 1997).

O comportamento de *B. bassiana* avaliado em laboratório, colonizando o *Solubea poecila*, percevejo-do-grão, verificou-se mortalidade de 84,4% e uma taxa de esporulação nos indivíduos mortos de 78,7% (SANTOS et al., 2002).

2.3.3.3 *Metarhizium* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae)

O fungo *M. anisopliae* é uma espécie muito pesquisada e utilizada em controle de pragas, pois infecta naturalmente mais de 300 espécies de insetos. Após o momento de adesão no tegumento do inseto, ocorre a germinação dos esporos do fungo, a partir daí são formados os apressórios, estruturas de penetração, facilitando a entrada do fungo no hospedeiro. Os insetos infectados apresentam comportamento de múmia, paralisia e interrupção do sistema digestivo.

Após a infecção e penetração do inseto, com duração de dois a quatro dias, inicia-se o processo de esporulação, nessa etapa da infecção o inseto apresenta coloração verde claro ou escuro (FERRON, 1978; ALVES, 1998).

O efeito de produtos formulados a base de fungos entomopatogênicos foi avaliado sobre ninfas de *G. brimblecombei*, utilizando Metarril WP (*M. anisopliae*), tendo-se obtido 100% de mortalidade dos insetos. Outros produtos a base de *M. anisopliae* avaliados apresentaram mortalidade satisfatória com resultados superiores a 60% de mortalidade, entretanto, foi o Metarril WP o mais eficiente (DAL POGETTO, 2009).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT, “**Sistema de Agrotóxicos Fitossanitário.**” Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA/CGAA.

<http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Visitado em:11/07/2018.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. **Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae*.** São Paulo: Instituto Biológico, (Boletim Técnico), 2006. 19p.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos.** 2. Ed. Piracicaba: Fealq, 1998. 1163p.

ALVES, S. B. Fungos no controle biológico de pragas. In: ENCONTRO SUL BRASILEIRO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 1986, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: AEAPF/EMBRAPA-CNPT, p. 179-189, 1986.

BERTI FILHO, E.; COSTA, V. S.; ZUPARKO, R. L.; LASALLE, J. Ocorrência de *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) no Brasil. **Revista de Agricultura**, v. 78, n.3, p.304, 2003.

BROOKER, M. I. H.; KLEINIG, D. A. **Field guide to Eucalypts.** 3. ed. Richmond, VIC: Blooming Books. 2006. 356p.

BUSTILLO, A. E. **Utilizacion del control biológico clásico en un programa de manejo integrado:** El caso de la broca del café *Hypothenemus hampei*, en Colombia. In Manejo Integrado de Plagas. Curso Internacional. Instituto Agropecuario, Santa Fé de Bogotá, Colômbia. 1995. 232p.

DAL POGETTO, M. H. F. A. **Avaliação de produtos comerciais de fungos Entomopatogênicos no controle do psilídeo-deconcha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: psyllidae).** 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas Campos de Botucatu, Botucatu-SP, 2009.

DELCLARO, K.; OLIVEIRA, P. S. Conditional outcomes in neotropical treehopper-ant association: temporal and species-specific variation in ant protection and homopteram fecundity. **Oecologia**, v.124, p.156-165, 2000.

DIAS, T. K. R. **Bionomia e comportamento de *Atopozelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae) mantidos em *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae).** 2009. Dissertação (Mestrado). Ciências Agrônomicas da UNESP - Campus de Botucatu, Botucatu, São Paulo. 2009.

- ELKINS, J. C. A New American Harpactorine Genus (Hemiptera, Reduviidae). **Texas Reports on Biology & Medicine**, v. 12, p. 39–48, 1954.
- FERNANDES, P. M.; LECUONA, R. E.; ALVES, S. B. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill à broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) (Coleoptera: Scolytidae). **Ecossistema**, v.10: p.176-182, 1985.
- FERREIRA FILHO, P. J.; WILCKEN, C. F.; OLIVEIRA, N. C.; POGETTO, M. H. F. A. D.; LIMA, A. C. V. Dinâmica populacional do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitóide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em floresta de *Eucalyptus camaldulensis*. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2109-2114, nov, 2008.
- FERRON, P. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. **Annual Review of Entomology**, v.23, p. 409-442, 1978.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MACHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: Fealq. 2002. 920p.
- GANDARILLA-PACHECO, F. L.; GALÁN-WONG, L. J.; LÓPEZ-ARROYO, J. I.; RODRÍGUEZ-GUERRA, R.; QUINTERO-ZAPATA, I. Optimization of pathogenicity tests for selection of native isolates of entomopathogenic fungi isolated from citrus growing areas of México on adults of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 1, p. 187- 195, 2013.
- GARCIA, F. R. M.; SAVARIS M.; PEREIRA D. V. M. Primeiro registro do parasitóide *Psyllaephagus bliteus* RIEK (Hymenoptera, Encyrtidae) no estado de Santa Catarina, Brasil. **Biodiversidade Pampeana**, v. 9, n. 1, 2011.
- GONÇALVES, J. L. M.; ROCHA, J. H. T.; BAZANI, J. H.; HAKAMADA, R. E. **Nutrição e adubação da cultura do eucalipto manejada no sistema de talhadia**. In: PRADO, R. M.; WADT, P. G. S. (Ed.). Nutrição e adubação de espécies florestais e palmeiras, Jaboticabal: FCAV/CAPES. 2014. p. 349-382.
- GONZÁLEZ-GARCIA, M. T.; FLÓREZ, F. J. P.; BUSTILLO, A. E. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. **Cenicafé**, v.44, p.93-102, 1993.
- HOLDER, D. J.; KEYHANI, N. O. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria* (Cordyceps) *bassiana* to substrata. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5260-5266, 2005.

- HOLLOBLER, B., WILSON, E. O. **The Ants**. Cambridge: The Belknap Press of Harvard University Press, 1990.
- IGNOFFO, C. M.; HOSTETTER, D. L.; GARCIA, C.; PINNELL, R. E. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* to chemicals pesticides used on soybeans. **Environmental Entomology**, v.4, n.5, p.765-768, 1975.
- IBÁ – Industria Brasileira de Árvores. **Relatório Industria Brasileira de Árvores 2015/IBÁ**. – Brasília: 2015.
- IBÁ – Industria Brasileira de Árvores. **Relatório Industria Brasileira de Árvores 2017/IBÁ**. – Brasília: 2017.
- IÑIGUEZ-HERRERA, G. Control biológico de *Glycaspis brimblecombei* Moore (Homoptera: Psylloidea; Spondyliaspidae). **Tu Bosque**, n.24, p. 6-8, 2001.
- LEZAMA-GUTIÉRREZ, R.; MOLINA-OCHOA, J.; CHÁVEZ-FLORES, O.; ÁNGEL-SAHAGÚN, C. A.; SKODA, S. R.; REYES-MARTÍNEZ, G.; BARBAREYNOSO, M.; REBOLLEDO-DOMÍNGUEZ, O.; RUÍZ-AGUILAR, G. M. L.; FOSTER, J. E. Use of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps bassiana* and *Isaria fumosorosea* to control *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Persian lime under field conditions. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 32, i. 01, p. 39-44, 2012.
- LORENCETTI, G. A. T. **Efeito de fungos entomopatogênicos e produtos naturais sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) e indução de resistência em plantas**. 2013. 53p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, Pato Branco, 2013.
- LOURENÇÃO, A. L.; KUMATSU, S. S.; ALVES, S. B. Controle de *Sitophilus zeamais* em milho com *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e Pirimifos Metil. **Ecossistema**, v.18, p.69-74, 1993.
- MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Growth, sporulation and viability of entomopathogenic fungi under mediums with different Nim oil (*Azadirachta indica*) concentrations. **Ciência Rural**, v.34, n.6, 2004.
- MEIKLE, W. G.; MERCADIER, G.; ROSENGAUS, R. B.; KIRK, A. A.; DEROUANÉ, F.; QUIMBY, P. C. Evaluation of an entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith (Deuteromycota: Hyphomycetes) obtained from Formosan subterranean termites (Isop., Rhinotermitidae). **Journal Applied Entomology**, v.129, n.6, p.315-322, 2005.
- MELO, M. C.; DELLAPÉ, P. M.; CARPINTERO, D. L.; COSCARÓN, M. C. Reduviidae, Miridae y Lygaeoidea (Hemiptera) recolectados en Colonia Carlos Pellegrini (Esteros de

- Iberá, Corrientes, Argentina). **Revista. de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 63, n. 1-2, p. 59-67, 2004.
- PACHECO, L. A.; SARTORI, M. R.; TAYLOR, R. W. D. Levantamento de resistência de insetos-pragas de grãos armazenados à fosfina, no Estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL** v.20, p.144-154, 1990.
- PASSOS, E. M.; ALBUQUERQUE, A. C.; MARQUES, E. J.; TEIXEIRA, V. W.; SILVA, C. C. M.; OLIVEIRA, M. A. P. Efeitos de isolados do fungo *Isaria* (Persoon) sobre o cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 232-237, 2014.
- RAMIREZ, A. L. G. **Fluctuacion poblacional del psílido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* y el efecto del control biológico con la vispa parasitóide *Psyllaephagus bliteus***. Cuautitlan Izcalli, (Tesis de Maestría). Ingeniera Agrícola-Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Edo. de México, 2003.
- ROSA, W. de LA; ALATORRE, R.; BARRERA, J. F.; TORIELLO, C. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. **Journal Economic Entomology**, v. 93, p. 1409-1414, 2000.
- ROSA W. de LA; ALATORRE, R.; TRUJILLO, J.; BARRERA, J. F. Virulence of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes) strains against the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Journal Economic Entomology**, v.90, p.1534-1538, 1997.
- SÁ, L. A. N. de; WILCKEN, C. F. **Nova praga exótica no ecossistema florestal**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, Brasil. 2004. 3p.
- SÁNCHEZ, B. S. **Aspectos bionómicos del psílido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Moore (Homoptera: Psylloidea: Spondyliaspidae)**. 76f. 2003. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Chapingo, México. 2003.
- SANTANA, D. L. Q.; CARVALHO, R. C. Z.; FAVARO, R. M.; ALMEIDA, L. M. *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e seus inimigos naturais no Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. **Anais...** Gramado: Sociedade Entomológica do Brasil, p. 450, 2004.
- SANTOS, R. S. S.; PRANDO, H. F.; DIEFENBACH, L. M. G.; ROMANOWSKI, H. P. Ocorrência Natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em Adultos Hibernantes de *Oebalus poecilus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 1, p. 153-155, 2002.

- SANTOS, T. S. **Seleção de fungos entomopatogênicos: caracterização biológica e patogenicidade sobre *Thaumastocoris peregrinus***. 2016, 48p. Dissertação (Mestrado). Biotecnologia Industrial, Universidade Tiradentes. Aracaju, 2016.
- SHAH, P. A.; PELL, J. K. Entomopathogenic fungi as biological control agents. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, n.5-6, p. 413-423, 2003.
- SMITH, P. Control of *Bemisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. **Biocontrol News and Information**, v. 14, p. 71-78, 1993.
- SMITH, R. J.; GRULLA, E. A. Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.37, n.3, p.222-230, 1981.
- SOLIMAN, E. P. **Controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) com fungos entomopatogênicos**. 2014, 98f. Tese (Proteção de plantas). Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, 2014.
- VELOZO, S. G. M. **Identificação, caracterização e avaliação da patogenicidade de diferentes isolados de *Fusarium* spp. para o controle de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Proteção de plantas). UNESP, Botucatu, 2015.
- WILCKEN C. F.; COUTO E. B.; ORLATO C.; FERREIRA FILHO P. J.; FIRMINO D. C. Ocorrência do psílideo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) em florestas de eucalipto no Brasil. **Circular Técnica Ipef**, v.201, p.1-11, 2003.
- WILCKEN, C. F.; NOGUEIRA DE SÁ, L. A.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; BRASIL DO COUTO, E.; PEREIRA FILHO, P. J.; FRANCHIM, T. Controle biológico do psílideo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) (Hemiptera: Psyllidae) em florestas de eucalipto. 2005. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/236596960_Controle_Biologico_do_psilideo-de-concha_Glycaspis_brimblecombei_Hemiptera_Psyllidae_em_florestas_de_eucalipto Acesso em: 04 de maio de 2017
- WILCKEN, C. F.; NOGUEIRA de SÁ, L. A.; FIRMINO, D. C.; BRASIL DO COUTO, E.; PEREIRA FILHO, P. J.; WINCKLER, D. C. F. Sistema de criação do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e de seu parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) para o programa de controle biológico em plantações de eucalipto. **Documentos Técnicos IPEF**, v.2, n.2, p.1-23, fev. 2010.
- WINCKLER, D. C. F.; WILCKEN, C. F.; OLIVEIRA, N. C.; MATOS, C. A. O. Biologia do psílideo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera, Psyllidae) em *Eucalyptus* spp. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p.144-146, 2009.

WINGFIELD, M. J.; ROUX, J.; SLIPPERS, B.; HURLEY, B. P.; GARNAS, J.; MYBURG, A. A.; WINGFIELD, B. D. Established and new technologies reduce increasing pest and pathogen threats to Eucalypt plantations. **Forest Ecology and Management**, v. 301, p. 35-42, 2013.

WRIGHT, M. S.; CONNICK W. J. JR; JACKSON M. A. Use of *Paecilomyces* spp. as pathogenic agents against subterranean termites. **U.S. Patent 7390480**. 2008.

YANAGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. Defense mechanism of the termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki, to entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.97, n.2, p.165-170, 2008.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, J. C.; SILVA, W. L. P.; RIBEIRO, G. T.; LEMES, P. G. An Overview of Integrated Management of Leaf-Cutting Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian Forest Plantations. **Forests**, v. 5, p. 439-454, 2014.

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology, and use in biological control. **Biocontrol Science and Technology**, v. 18, p. 865-891, 2008.

4. CAPÍTULO 1

CONTROLE MICROBIANO DE *Glycaspis brimblecombei* (Moore 1964) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) UTILIZANDO FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS.

A ser submetido em Periódico indexado

RESUMO

As perdas econômicas ocasionadas por insetos fitófagos consistem em danos causados diretamente na planta. Esses danos podem ser ainda mais drásticos com a presença de pragas invasoras e essas, quando bem adaptadas, apresentam elevada taxa de reprodução, além da ausência de inimigos naturais. *Glycaspis brimblecombei* (psilídeo-de-concha-do-eucalipto) é uma espécie originária da Austrália e sua primeira ocorrência no Brasil foi relatada no ano de 2003. Os psilídeos-de-concha são semelhantes a pequenas cigarrinhas e possuem hábito sugador. Eles pertencem a ordem Hemiptera, subordem, Sternorrhyncha e família Psyllidae. No Brasil, o controle de diversos insetos pragas tem sido efetuado com os fungos entomopatogênicos. O controle biológico com patógenos mostra-se um método interessante em ambiente com umidade superior a 60%. Em laboratório foram utilizados cinco isolados de fungos entomopatogênicos, sendo dois isolados de *Beauveria bassiana* e um de *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium robertsii* e *Metarhizium anisopliae*, e uma testemunha. Em campo foram utilizados dois fungos (*I. fumosorosea* e *B. bassiana*), dois fungos comerciais (Boveril e Metarril), um inseticida químico (Bifentrina) e uma testemunha. A mortalidade de *G. brimblecombei* diferiu entre os tratamentos com os isolados de fungos mantidos em laboratório, *M. robertsii* foi mais eficiente com redução populacional de 100% em dois dias. Em campo, dos tratamentos biológicos, o *I. fumosorosea* foi mais eficiente com 83,56% de redução populacional em menos de três dias, seguido por *B. bassiana* com redução populacional de 51,53%. Os fungos *I. fumosorosea*, *B. bassiana*, *Metarhizium robertsii* e *Metarhizium anisopliae* são eficientes no controle de *G. brimblecombei* em condições controladas e de campo e são potencialmente viáveis para utilização em programas de Manejo Integrado de *G. brimblecombei*.

Palavras-chave: Controle biológico; Fungos entomopatogênicos; Redução populacional.

ABSTRACT**MICROBIAL CONTROL OF *Glycaspis brimblecombei* (Moore 1964) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) USING ENTOMOPATHOGENIC FUNGI.**

The economic loss generated by phytophagous insects consist of the damage caused directly to the plant. The harm might be aggravated with the presence of invasive pests, which present a high reproduction rate when they are well-adapted, and with the absence of natural enemies. *Glycaspis brimblecombei* (Eucalyptus redgum lerp psyllid) is a species native to Australia and which was first reported in Brazil in 2003. Eucalyptus redgum lerp psyllid is a plant-juice sucking homopteran of the suborder Sternorrhyncha and the family Psyllidae. In Brazil, insect-pests have been controlled using entomopathogenic fungi. The biological control using pathogens has shown to be promising in environments with more than 60% of air humidity. This study performed a laboratory trial with five entomopathogenic fungi isolates (two isolates of *Beauveria bassiana* and one isolate of *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium robertsii*, and *Metarhizium anisopliae*) and a control treatment. Also, a field trial was conducted using two fungi (*I. fumosorosea* and *B. bassiana*), two commercial fungi (Boveril and Metarril), a chemical insecticide (Bifenthrin), and a control treatment. The mortality of *G. brimblecombei* differed between treatments whose fungi isolates were kept in the laboratory; *M. robertsii* presented the best result, with a 100% population reduction in two days. Regarding the field trial, treatments *I. fumosorosea* and *B. bassiana* had the best results, with an 83.56% and 51.53% population reduction, respectively, in less than three days. The fungi *I. fumosorosea*, *B. bassiana*, *M. robertsii*, and *M. anisopliae* showed satisfactory results for the efficient control of *G. brimblecombei* in the field and under controlled conditions. Therefore, these fungi are a potentially viable alternative for use in Integrated Management Programs of *G. brimblecombei*.

Key-words: biological control; entomopathogenic fungi; population reduction.

4.1. Introdução

O Brasil possui uma área de 7,84 milhões de hectares de florestas plantadas e é responsável por 91% de toda madeira produzida para fins industriais (IBÁ, 2017). Considerada atualmente referência em produtividade no mundo, as plantações de árvores no Brasil destinam-se a produção de celulose, papel, painéis de madeira, pisos, laminados, carvão vegetal, biomassa e outros, gerando centenas de produtos e subprodutos.

Em 2016, com produtividade média de $35,7 \text{ m}^3.\text{ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$, o Brasil liderou o ranking global de produtividade florestal com as plantações de eucalipto, utilizando principalmente híbridos provenientes de intenso programa de melhoramento genético (WINCKLER et al., 2009; BROOKER; KLEINIG, 2006; IBÁ, 2017).

A introdução de espécies de insetos-pragas exóticas no país é resultado da falha nas fronteiras fitossanitárias e pode comprometer a produtividade de plantações de eucalipto, principalmente quando há ausência de inimigos naturais (PAINE et al., 2011; WILCKEN et al., 2011).

Dentre as espécies de insetos-pragas exóticas se destaca o *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae), conhecido popularmente como Psilídio-de-concha-do-eucalipto. Seu ciclo de vida total varia dependendo da espécie hospedeira. Em *Eucalyptus tereticornis* o ciclo de vida total é em média 24 dias e em *Eucalyptus urophylla* é de 21 dias. Após a eclosão do ovo, o inseto passa por 5 instares ninfais até a fase adulta (WINCKLER et al., 2009).

Adultos e ninfas de *G. brimblecombei* possuem aparelho bucal sugador e alimentam-se exclusivamente do floema de eucalipto por meio de sucção; apresentam predileção por brotações e folhas novas. Provocam descoloração de folhas, perda foliar, redução no crescimento, morte de ramos, principalmente os mais jovens e induz o aparecimento de fumagina (RAMIREZ, 2003).

Fungos entomopatogênicos são agentes importantes no controle biológico natural de diversos insetos, foram os primeiros patógenos a serem utilizados para o controle microbiano. A relação fungo-hospedeiro no ciclo de infecção depende das condições ambientais, sendo ela, principalmente temperatura, umidade, luz e radiação ultravioleta (CARRUTHERS; HURAL, 1990; ALVES; PEREIRA, 1998)

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de controle que fungos entomopatogênicos podem promover em populações de ninfas e adultos de *G. brimblecombei* em condições controladas e de campo.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Bioensaio de patogenicidade em condições controladas

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Controle Biológico da Biofábrica do SergipeTec. Foram utilizados dois isolados de *Beauveria*, dois de *Metarhizium* e um de *Isaria*, totalizando cinco isolados de fungos entomopatogênicos, provenientes da micoteca do Laboratório de Fitossaniade (Emdagro/SE e Embrapa Tabuleiros Costeiros – CPATC/SE) (Tabela 1).

TABELA 1. Relação dos tratamentos e respectivas concentrações, que foram avaliados para o controle de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) em laboratório.

Isolados	Espécie	Precedência/local	Concentração
Bb7	<i>Beauveria bassiana</i>	Sul Sergipano	1 x 10 ⁸
Bb8	<i>Beauveria bassiana</i>	Alto Sertão Sergipano	1 x 10 ⁸
If1	<i>Isaria fumosorosea</i>	Alto Sertão Sergipano	1 x 10 ⁸
Mr2	<i>Metarhizium robertsii</i>	Sul Sergipano	1 x 10 ⁸
Ma2	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Baixo Sertão Sergipano	1 x 10 ⁸
CT	Água + Espalhante (0,05%)		0,05%

4.2.1.1. Viabilidade e mortalidade confirmada corrigida

Os isolados foram repicados em placas de Petri com meio semissólido seguindo metodologia de Alves e Pereira (1998), o tempo de crescimento foi de sete dias em câmara de germinação B.O.D, à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de $67\% \pm 10\%$, com fotofase de 12 horas.

A suspensão fungica foi preparada a partir das placas de Petri colonizadas, com a junção da solução de Tween 80 (0,05%). Foram realizados testes de viabilidade para cada isolado, plaqueando 100µL de cada suspensão em placas do tipo Rodac também com meio de cultura semissólido. As placas foram incubadas por 12 horas em B.O.D., com os mesmos parâmetros de temperatura e umidade para a germinação dos isolados. A viabilidade dos conídeos (%) foi calculada a partir da razão entre o número de conídeos germinados e não germinados, contados com o auxílio de um microscópio óptico (400x).

A concentração das suspensões fúngicas foi padronizada através da contagem de conídeos da solução padrão, em câmara de Neubauer, com o auxílio de microscópio óptico (400x). As suspensões para os bioensaios foram ajustadas para uma concentração de 1 x 10⁸ conídeos/mL. Essa concentração foi definida a partir da literatura, na utilização de

formulados produzidos comercialmente à base de fungos entomopatogênicos no controle do psilídeo-de-concha (DAL POGETTO, 2009).

Foram realizados bioensaios para experimentos em insetos com e sem a concha protetora. Para os bioensaios, foram preparadas arenas em placas de Petri de acrílico forradas com algodão levemente umedecido. Foram acondicionados 10 insetos em cada placa e dispostos em pedaços de folha de eucalipto (Figura 1). Dois mililitros de cada solução foram pulverizados nas arenas com o auxílio de pulverizador manual de 30atm (airbrush acoplado a um compressor Sagyma ASW-186) à 15cm de distância dos pedaços de folha. Após a pulverização, os tratamentos foram mantidos em B.O.D à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de 67% com fotofase de 12 horas.



FIGURA 1. Aspectos da arena estabelecida em placas de petri e utilizada nos bioensaios com *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), evidenciando as conchas em pedaços de folhas de eucalipto.

Fez-se a avaliação da mortalidade dos insetos a cada 24 horas por um período de 7 dias. Na avaliação, os insetos mortos foram retirados das arenas, imergidos em solução de hipoclorito de sódio (5%) e depois lavados em águas destilada. Após a desinfecção, os insetos foram transferidos para câmaras úmidas (placa de petri com papel filtro, umedecidos com água destilada) para a confirmação da mortalidade, avaliando a esporulação de cada isolado de fungo entomopatogênico. As câmaras úmidas foram acondicionadas em B.O.D. com os mesmos parâmetros de temperatura e umidade para a germinação dos isolados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado contendo seis tratamentos com quatro repetições cada. Os valores de mortalidade dos insetos foram corrigidos utilizando

a fórmula de Schneider-Orelli's (1947) e suas médias foram submetidas a análise de variância (ANOVA), seguida por teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.2.1.2. Curva de sobrevivência e TL_{50} para insetos sem a concha

Para a determinação da estimativa da TL_{50} dos isolados de fungos entomopatogênicos, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado contendo seis tratamentos, com quatro repetições cada. A TL_{50} foi estimada a partir da construção da curva de sobrevivência dos insetos, utilizando o método de Kaplan-Meier, através do software SPSS versão 22.0 (SPSS 22, 2013).

4.2.2. Bioensaio em campo

O experimento foi conduzido em plantação clonal de *Eucalyptus* sp., com quatro meses de idade, estabelecido no espaçamento 3 x 2 m, localizado no município de Esplanada/BA, pertencente a Bahia Specialty Cellulose/Copener.

Os isolados de fungos entomopatogênicos utilizados foram: *Beauveria bassiana* e *Isaria fumosorosea*, oriundos da micoteca do Laboratório de Fitossanidade (Emdagro/SE e Embrapa Tabuleiros Costeiros – CPATC/SE), dois isolados comerciais (Boveril e Metarril), um inseticida químico (Bifentrina) e a testemunha (Tabela 2).

TABELA 2. Relação dos tratamentos, produto ou fabricante, natureza do tratamento e princípio ativo que foram aplicados em *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), em plantação de eucalipto, na região de Esplanada, Bahia.

Tratamento	Produto - Fabricante	Natureza	Princípio Ativo
IF	<i>Isaria fumosorosea</i>	Biológico	<i>Isaria fumosorosea</i> (If1*)
BB	<i>Beauveria bassiana</i>	Biológico	<i>Beauveria bassiana</i> (Bb7*)
BL	Boveril – Koppert Brasil	Biológico	<i>Beauveria bassiana</i> cepa PL63
ML	Metarril – Koppert Brasil	Biológico	<i>Metarhizium anisopliae</i> cepa E9
BF	Capture 400EC - FMC	Químico	Bifentrina
CT	Água + Espalhante (0,05%)	Testemunha	-

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, com cinco blocos e seis tratamentos (Tabela 2), sendo dois isolados de fungos entomopatogênicos, três produtos comerciais e um controle, totalizando 30 parcelas com 16 árvores (4 x 4 árvores), com uma linha de árvores não tratadas entre as parcelas.

4.2.2.1. Mortalidade de insetos

Os fungos foram, inicialmente, disponibilizados em placas de Petri com BDA (batata+dextrose+ágar) e foram produzidos em larga escala, utilizando arroz parboilizado, seguindo a Técnica de Produção do Fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para uso em Controle Biológico da Embrapa (MASCARIN; QUINTELA, 2013).

A padronização da concentração e a viabilidade dos isolados utilizados seguiu o mesmo padrão de metodologia para o bioensaio em laboratório.

Em campo, um galho por parcela foi isolado utilizando sacos de tecido voil e em seguida esses galhos foram retirados para contagem de insetos por folha antes da aplicação dos tratamentos, visando obtenção do número de insetos por folha vivos e mortos. Após a aplicação dos tratamentos, galhos localizados no terço médio das árvores foram isolados com uso de um saco de tecido voil e retirados três dias após a aplicação para coleta de insetos mortos (Figura 2a). Os psilídeos-de-concha mortos foram acondicionados em câmara úmida para análise da mortalidade, visando confirmar a infecção do fungo no inseto por meio da esporulação dos conídios em sua superfície.

4.2.2.2. Flutuação populacional

A flutuação populacional do *G. breblincombei* foi avaliada mediante contagem de insetos nas conchas (fase jovem) e com uso de uma cartela adesiva (fase adulta). As cartelas foram colocadas nas árvores sete dias antes da aplicação dos tratamentos e substituídas um dia antes da aplicação. Em seguida foi colocada uma cartela por parcela no terceiro, sétimo, décimo quarto e vigésimo primeiro dias após a aplicação dos tratamentos (Figura 2b).

As eficiências foram corrigidas pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925), adequada para avaliar populações de insetos uniformes. As flutuações populacionais médias foram submetidas a análise de variância e comparadas pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).



FIGURA 2. Aspectos da área experimental e da avaliação de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) em campo sendo: a) galho isolado com saco em tecido voil e; b) cartela adesiva mantida nas parcelas para avaliação.

4.3. Resultados e Discussões

4.3.1. Bioensaio de patogenicidade em condições controladas

4.3.1.1. Viabilidade e mortalidade confirmada corrigida

A viabilidade para os isolados Mr2, Bb7, Bb8, If1 e Ma2 foi de 97,7%, 96,6%, 87%, 98,2%, e 97,2% respectivamente (Tabela 3). Valores semelhantes ao encontrado por Santos (2016), ao avaliarem os mesmos isolados obtendo viabilidade média em torno de 95%.

TABELA 3. Relação da viabilidade dos isolados utilizados nos experimentos em condições controladas e de campo, aplicados em *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae).

Isolados	Espécie	Viabilidade (%)
Bb7	<i>Beauveria bassiana</i>	96,6
Bb8	<i>Beauveria bassiana</i>	87
If1	<i>Isaria fumosorosea</i>	98,2
Mr2	<i>Metarhizium robertsii</i>	97,7
Ma2	<i>Metarhizium anisopliae</i>	97,2

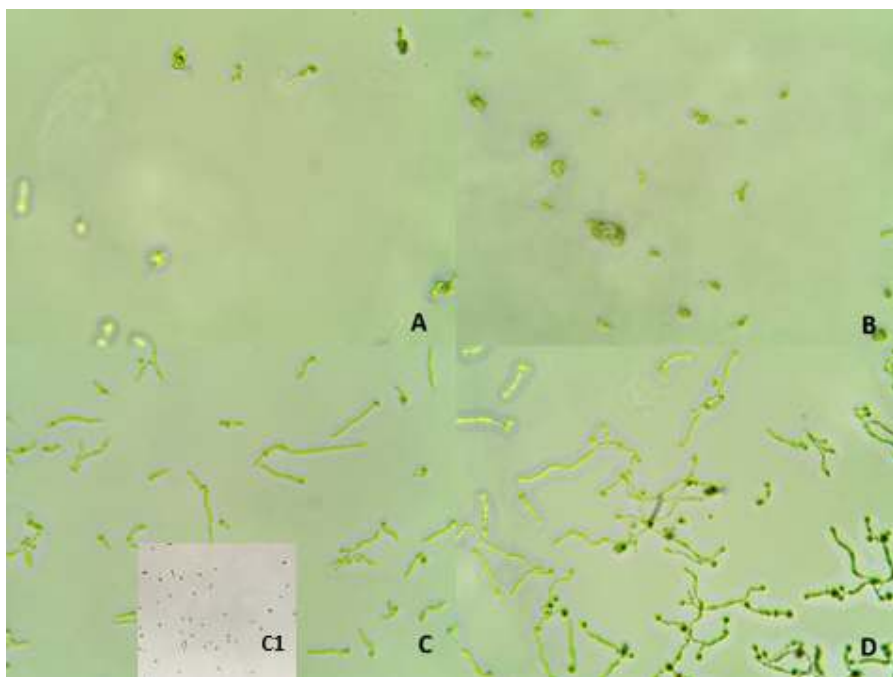


FIGURA 3. Germinação dos conídeos dos fungos entomopatogênicos, após 12 horas de incubação em BOD à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de $67\% \pm 10\%$, com fotofase de 12 horas. A) *Metarhizium anisopliae* (Ma2), B) *Metarhizium robertsii* (Mr2), C) *Beauveria bassiana* (Bb7), C1) *Beauveria bassiana* (Bb8), D) *Isaria fumosorosea* (If1).

A viabilidade de conídeos dos isolados avaliados nesse estudo foi superior da obtida por Oliveira (2009), onde *B. bassiana* foi de $84,0 \pm 0,7\%$ a $94,1 \pm 0,8\%$ e *M. anisopliae* de $54 \pm 0,8\%$ a $63,1 \pm 1,7\%$, utilizando a formulação em óleo emulsionável.

A mortalidade dos isetos foi confirmada pela esporulação dos fungos no corpo dos insetos mortos e isolados em câmaras úmidas (Figura 4), evidenciando que todos os fungos avaliados provocaram a infecção e morte do psilídio-de-concha-do-eucalipto em laboratório.

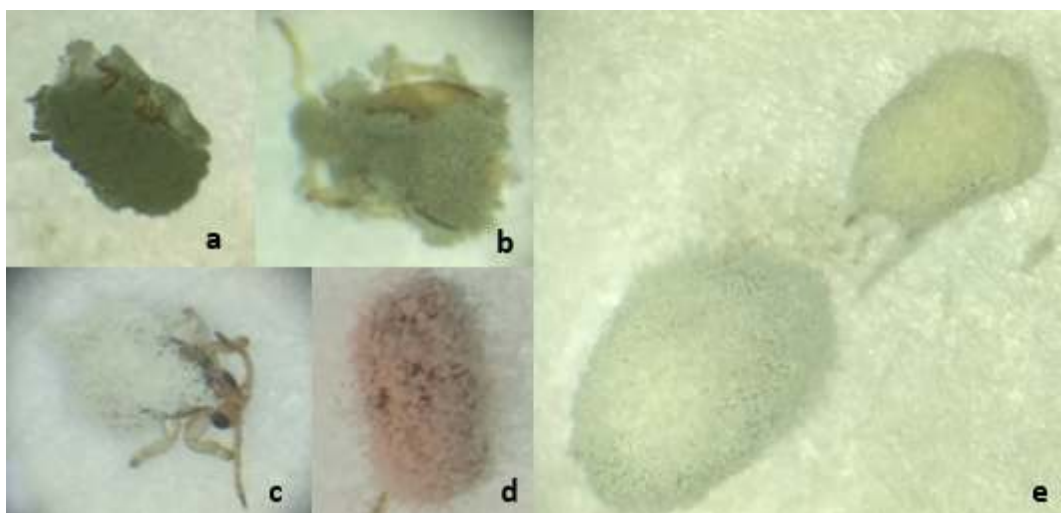


FIGURA 4. *Glycaspsis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) infectados e mortos por isolados de fungos entomopatogênicos avaliados em condições controladas de laboratório: a) *Metarhizium robertsii* (Mr2), b) *Metarhizium anisopliae* (Ma2), c) *Beauveria bassiana* (Bb8), d) *Isaria fumosorosea* (If1) e e) *Beauveria bassiana* (Bb7).

Com os psilídios sem a concha protetora, o isolado de *M. robertsii* (Mr2) foi superior, pois causou maior mortalidade acumulada e diferindo estatisticamente dos demais isolados. Somente o isolado Mr2 provocou a mortalidade de 100% dos psilídios-de-concha dois dias após a aplicação dos tratamentos, bem como confirmação de infecção em todos os insetos (Tabela 4).

Os isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Bb7 e Ma2) não diferiram estatisticamente entre si e do isolado de *M. robertsii* (Mr2), após o 1º e 2º dia após aplicação, porém diferiram estatisticamente dos isolados *B. bassiana* e *I. fumosorosea* (Bb8 e If1). Por outro lado, no 4º dia após a aplicação dos tratamentos, todos os isolados não diferiram estatisticamente entre si e todos eles diferiram do controle (Tabela 4), indicando que todos os isolados avaliados podem ser eficientes no controle de *G. brimblecombei*.

Esses dados diferem dos obtidos por Favaro (2006), entretanto, Dal Pogetto (2009) relatou em seu estudo que a utilização de produtos formulados comercialmente a base de *M. anisopliae* mostraram-se superiores a produtos a base de *B. bassiana*, porém os dois apresentaram alta virulência em *G. brimblecombei*, comprovando os resultados encontrados nesse estudo.

Estudos em laboratório com o isolado If1 de *I. fumosorosea* obteve-se elevado percentual de mortalidade (97,5%) de *Thaumastocoris peregrinus*, evidenciando o potencial de *I. fumosorosea* no controle de insetos pragas (SANTOS, 2016).

A avaliação do tratamento dos insetos com a concha protetora foi realizada no 4º dia após a aplicação dos tratamentos. Assim como no experimento sem a concha o isolado que exibiu maior mortalidade foi Mr2 (*M. robertsii*), com média de 70% insetos mortos e diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Os isolados If1 (*I. fumosorosea*) e Ma2 (*M. anisopliae*) não diferiram significativamente entre si com 30% de mortalidade cada, porém com mortalidade bem inferior ao isolado Mr2 (Tabela 4).

O isolado Bb8 (*B. bassiana*) não diferiu estatisticamente da testemunha, sendo que em nenhum inseto morto foi confirmada a esporulação do fungo. Isso pode ter ocorrido devido a umidade na câmara úmida não ter sido suficiente para que ocorresse a germinação dos fungos.

TABELA 4. Número médio de *Glycaspis brimblecombei* mortos pela aplicação dos isolados em função de cada período de avaliação (temperatura: 26 ± 1 °C, UR: $67 \pm 10\%$ e fotofase: 12 h).

Patógeno	Produto	Sem Concha				Com Concha
		Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 4
<i>Metarhizium robertsii</i>	Mr2	6,25aB	10aA	10aA	10aA	7 ^a
<i>Beauveria bassiana</i>	Bb7	1,75bcB	7,75abA	8bA	8,50abA	1,75bc
<i>Beauveria bassiana</i>	Bb8	0,75cC	3cB	5cA	5,75cA	0c
<i>Isaria fumosorosea</i>	If1	1,75bcC	7,25bB	8,75abAB	9,25abA	3b
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma2	4,75abB	7,50bA	8,25abA	8,25bA	3b
	CT	0cA	0dA	0,25dA	1dA	1,5bc
CV (%):		22,83				39,64
DMS:		2,23				2,47

Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúscula na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.3.1.2. Curva de sobrevivência e TL₅₀ para insetos sem a concha

O tempo médio letal de cada isolado para os insetos sem a concha indica que os isolados de *Metarhizium* avaliados (Mr2 e Ma2) são mais eficientes sobre *G. brimblecombei*, pois foram necessários apenas 1,3 e 1,5 dias para provocar a morte de 50% da população (Tabela 5). Entretanto, tanto o isolado Bb7 quanto If1, de *B. bassiana* e *I. fumosorosea* respectivamente, também foram eficientes, pois o tempo médio foi de 2,0 e 2,1 dias para causar a morte de 50% da população, incluindo o isolado de *B. bassiana* (Bb8) com tempo médio letal de 2,4 dias para causar a morte de *G. brimblecombei* (Figura 5).

Santos (2016) obteve tempo letal semelhante aos obtidos nesse estudo utilizando os mesmos isolados de *M. anisopliae* e *M. robertsii*, com tempo letal médio de 2 dias e para o isolado de *I. fumosorosea* com tempo letal médio de 3 dias. Deve-se levar em consideração

que os isolados utilizados no presente trabalho foram revigorados dos utilizados por Santos (2016).

TABELA 5. Estimativa da TL_{50} dos isolados de fungos entomopatogênicos avaliados nesse estudo com *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psillidae), sem a concha protetora.

Isolados	Estimativa	Erro Padrão	Limite inferior	Limite superior
Mr2	1,3	0,08	1,20	1,50
Bb7	2,0	0,11	1,78	2,22
Bb8	2,4	0,19	2,11	2,84
If1	2,1	0,13	1,87	2,40
Ma2	1,5	0,12	1,29	1,74

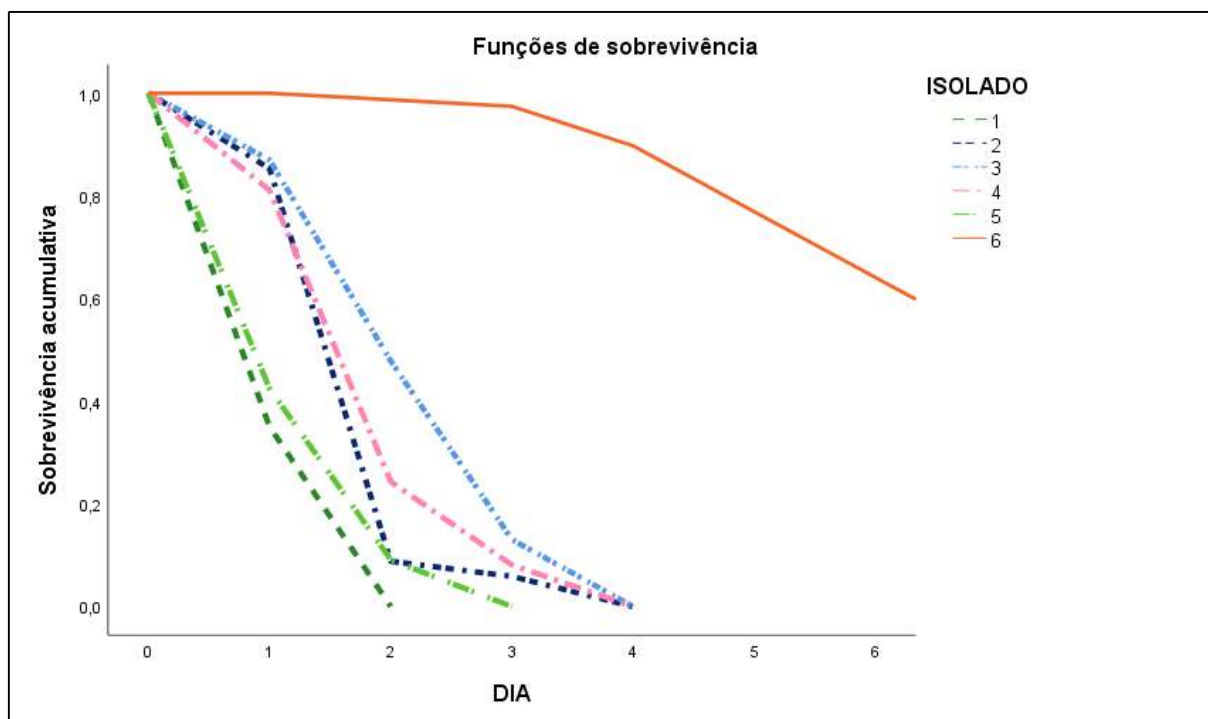


FIGURA 5. Curva de sobrevivência, análise Kaplan-meier, de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psillidae), sem a concha protetora, após a pulverização de isolados de fungos entomopatogênicos. Isolado: 1 = Mr2, 2 = Bb7, 3 = Bb8, 4 = If1, 5 = Ma2 e 6 = Testemunha.

Apesar dos isolados provenientes do fungo entomopatogênicos *B. bassiana* não terem apresentado o melhor resultado nesse estudo, os resultados ainda foram superiores ao encontrado por Favaro (2006) com a utilização de isolado proveniente do gênero *Beauveria* com uma média de 4,86 dias para matar metade da população. Esse resultado pode ser

explicado pela concentração utilizada por esse autor, que foi de $1,5 \times 10^7$, menor do que a utilizada nesse estudo que foi de 1×10^8 .

4.3.2. Bioensaio em campo

4.3.2.1. Flutuação populacional

A população de *G. brimblecombei*, após a aplicação dos tratamentos, foi reduzida nas duas fases de desenvolvimento dos insetos analisadas. O produto químico a base de bifentrina promoveu redução na população de *G. brimblecombei* na fase jovem (ninfas), na ordem de 91%, resultado semelhante estatisticamente ao tratamento com *I. fumosorosea*, com redução de 83,56% (Figura 6).

Entretanto, o produto comercial Metarril e o tratamento com formulado de *B. bassiana* não diferiram estatisticamente entre si, apresentando percentual de redução de população *G. brimblecombei* na fase de ninfa de 57,17% e 51,36% respectivamente, mas foram estatisticamente superiores ao produto comercial boveril, que não diferiu estatisticamente do controle (testemunha), com porcentagem de redução de 21,90% (Figura 6).

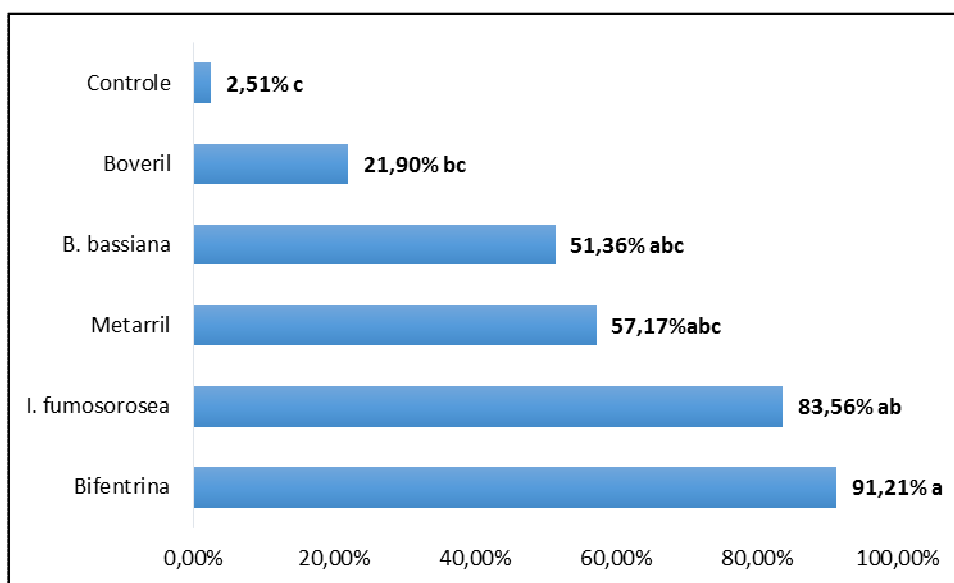


FIGURA 6. Percentual de redução da população de psilídeo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), em diferentes estádios ninfais, em condições de campo.

Durante o desenvolvimento do trabalho, verificou-se que o melhor desempenho de *I. fumosorosea* sobre ninfas de *G. brimblecombei* pode estar relacionado ao tempo de infecção e quantidade de conídios produzidos por essa espécie. Em avaliação de tempo para produção de conídios, conidióforos e apressórios, Lopes et al. (2016) constatou que após 48 horas *I. fumosorosea* já havia produzido apressórios, conidióforos e conídios em abundância,

principalmente em reisolados, não havendo diferença significativa quando comparado com dois outros isolados do mesmo gênero.

Quanto à redução da população de adultos de *G. brimblecombei*, o produto comercial bifentrina foi o que promoveu maior mortalidade, com 90,39% e diferindo-se dos demais tratamentos. Os tratamentos a base de produtos biológicos, *B. bassiana*, Metarril, Boveril e *I. fumosorosea*, apresentaram resultados satisfatórios e não diferiram estatisticamente si, com percentual de redução de população de 70,71%, 67,82%, 66,99% e 66,70%, respectivamente. O controle diferiu estatisticamente de todos os tratamentos com 30,33% de mortalidade (Figura 7).

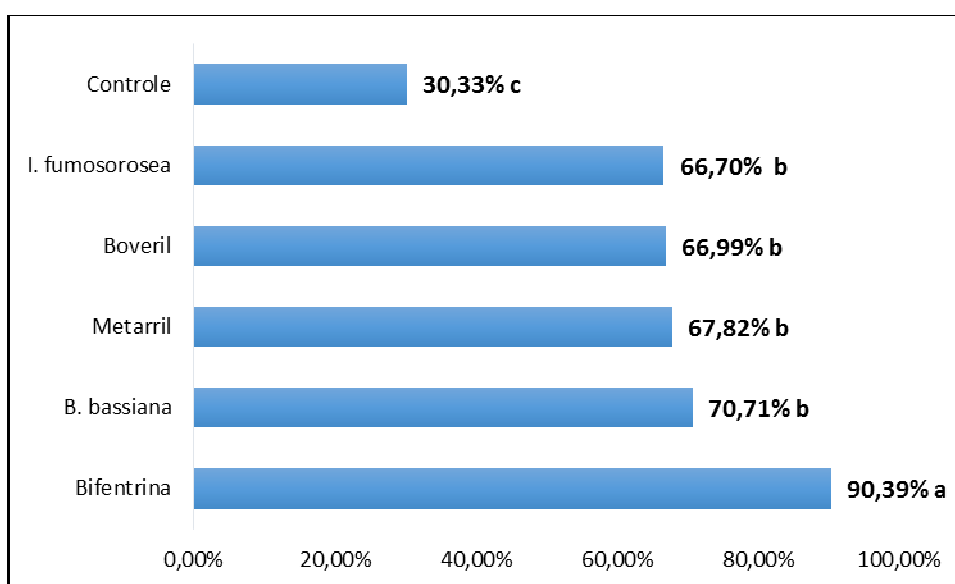


FIGURA 7. Percentual de redução da população de insetos adultos de psilídeo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psillidae), em condições de campo.

Mesmo não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos biológicos, *B. bassiana* apresentou o maior percentual de redução de população (70,71%), corroborando dados de que formulados de *B. bassiana* têm sido amplamente utilizados em controle biológico de insetos praga de diversas culturas. A infecção por *B. bassiana* foi mais eficiente no início do experimento avaliado por Favaro (2006), obtendo resultados satisfatórios a partir do 2º dia de avaliação, resultados semelhantes aos obtidos por Rocha Junior (2017) com *B. bassiana* para o controle e *Taumastocoris peregrinos* em insetos adultos e em condições de campo, características semelhantes às utilizadas nesse estudo.

4.3.2.2 Mortalidade de insetos

A maior eficiência foi do tratamento Bifentrina, com média de 35% de mortalidade de adultos de *G. brimblecombei*, seguido dos isolados *B. bassiana* e *I. fumosorosea* que

apresentaram eficiência média de 32%, resultado muito semelhante ao tratamento químico, considerado ainda o mais eficiente. Porém, os tratamentos em que foram utilizados produtos formulados a base de fungos entomopatogênicos (Metarril e Boveril) apresentaram médias de eficiência de 23% e 20% de mortalidade de adultos de *G. brimblecombei* respectivamente (Figura 8).

Em condições de laboratório têm sido comum obter mortalidade de insetos, incluindo *G. brimblecombei*, superior às obtidas em campo, pois, em campo, diversos fatores abióticos não são devidamente controlados. Dal Pogetto (2009) obteve mortalidade em torno de 50% para *B. bassiana* no controle de *G. brimblecombei*, 18% acima da obtida.

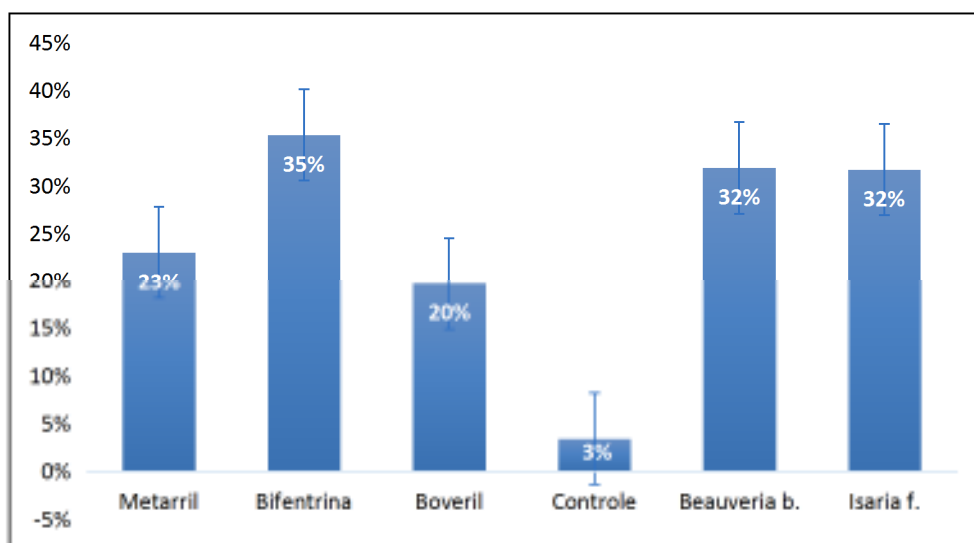


FIGURA 8. Médias da eficiência da mortalidade dos tratamentos no controle de *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psillidae), em condições de campo.

4.4. Conclusões

O fungo *I. fumosorosea*, apesar de ser pouco estudado e ainda pouco utilizado, apresenta alta taxa germinativa e significativa taxa de toxidade em ninfas e adultos de *G. brimblecombei*.

As espécies de *Metarhizium* foram mais eficientes e apresentam maior toxidade do que as de *Beauveria* em ninfas e adultos de *G. brimblecombei*.

Os fungos *M. robertsii*, *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *I. fumosorosea* são eficientes no controle biológico de *G. brimblecombei* e foram capazes de completar seu ciclo biológico tanto em ninfas, quanto em adultos de *G. brimblecombei* em condições de laboratório e de campo.

4.5. Referências Bibliográficas

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 15, p. 265-267, 1925.
- ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Eds). **Controle microbiano de insetos**. Fealq, Piracicaba.1998. p.845-870.
- BROOKER, M. I. H.; KLEINIG, D. A. **Field guide to Eucalypts**. 3. ed. Richmond, VIC: Blooming Books. 2006. 356p.
- CARRUTHERS, R. I.; HURAL, K. Fungi as naturally occurring entomopathogens. **UCLA Symp. Mol. Cell. Biol.** (USA) v.112, p.115-138, 1990.
- DAL POGETTO, M. H. F. A. **Avaliação de produtos comerciais de fungos Entomopatogênicos no controle do psilídeo-deconcha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: psyllidae)**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas Campos de Botucatu, Botucatu-SP, 2009.
- FAVARO, R. M. **Aspectos bionômicos de *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Psyllidae) e seu controle com fungos entomopatogênicos**. 2006. 43f. Dissertação (Mestrado em Ciência Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores. **Relatório Indústria Brasileira de Árvores 2017/IBÁ**. – Brasília: 2017.
- LOPES, R. S.; LIMA, G.; OLIVEIRA, L. G.; COSTA, A. F.; CORREIA, M. T. S.; LIMA, E. A. L. A.; LIMA, V. L. M. Aspectos biológicos de espécies de *Isaria* (Persoon) após infecção sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), **Pesquisa Agropecuária de Pernambuco**, v. 21, n. 1, p. 32-38, 2016.
- MASCARIN, G. M.; QUINTELA, E. D. **Técnica de Produção do Fungo Entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para Uso em Controle Biológico**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2013. 17p.
- OLIVEIRA, D. G. P. **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**. 2009. 90f. (Dissertação: Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba – São Paulo. 2009.
- PAINE, T. D.; STEINBAUER, M. J.; LAWSON, S. A. Native and Exotic Pests of Eucalyptus: A Worldwide Perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 56, p. 181–201, 2011.

- RAMIREZ, A. L. G. **Fluctuacion poblacional del psilido del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* y el efecto del control biológico con la vispa parasitóide *Psyllaephagus bliteus***. Cuautitlan Izcalli, (Tesis de Maestria). Ingeniera Agrícola-Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Edo. de México, 2003.
- ROCHA JUNIOR, V. F. **Eficiência de fungos entomopatogênicos no controle do percevejo-bronzeado-do-eucalipto (*Thaumastocoris peregrinus*) (Hemiptera: Thaumastocoridae) em condições de campo**. 2017. 30f. (Dissertação: Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2017.
- SANTOS, T. S. **Seleção de fungos entomopatogênicos: caracterização biológica e patogenicidade sobre *Thaumastocoris peregrinus***. 2016, 48p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Universidade Tiradentes. Aracaju, 2016.
- SCHNEIDER-ORELLI, O. **Entomologisches practicum**. Aarau: Sauerlander. 1947. 149p.
- SPSS 22. **SPSS 22.0 for Windows**. Chicago (IL): SPSS Inc., 2013.
- WILCKEN, C. F.; BARBOSA, L. R.; DE SÁ, L. A. N.; SOLIMAN, E. P.; LIMA, A. V. C.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; DIAS, T. C. R. Manejo de pragas exóticas em florestas de eucalipto. **Anais... ENCONTRO BASILEIRO DE SILVICULTURA 2**, Campinas – São Paulo/BR, p. 129- 134, 2011.
- WINCKLER, D. C. F.; WILCKEN, C. F.; OLIVEIRA, N. C.; MATOS, C. A. O. Biologia do psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera, Psyllidae) em *Eucalyptus* spp. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p.144-146, 2009.