**SELEÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS E
CONTROLE DE *Frankliniella occidentalis*
(THYSANOPTERA: THRIPIDAE)**

ROGÉRIO BIAGGIONI LOPES

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **SÉRGIO BATISTA ALVES**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Abril – 1999

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Lopes, Rogério Biaggioni

Seleção de fungos entomopatogênicos e controle de *Frankliniella occidentalis*
(Thysanoptera : Thripidae) / Rogério Biaggioni Lopes. - - Piracicaba, 1999.
72 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.
Bibliografia.

1. Alfaca 2. Biologia 3. Controle biológico 4. Estufa 5. Fungo entomopatogênico
6. Inseto-nocivo 7. Praga agrícola 8. Trips I. Título

CDD 632.731

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio Batista Alves, pela orientação, confiança, amizade e respeito demonstrados durante nosso convívio.

Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia (ESALQ/USP) pelos valiosos conhecimentos por mim adquiridos no decorrer do curso de pós-graduação.

À bióloga Solange Aparecida Vieira, técnica do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos pelo auxílio na elaboração e condução dos experimentos.

A todos os colegas do curso de pós-graduação em Entomologia, em especial à equipe do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos, pela amizade e companheirismo.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos que possibilitou a execução desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
SUMMARY.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Características gerais e aspectos bioecológicos de <i>Frankliniella occidentalis</i>	3
2.2 Danos e importância econômica de <i>Frankliniella occidentalis</i>	4
2.3 Controle.....	6
2.3.1 Controle químico.....	6
2.3.2 Controle biológico.....	7
3 CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE <i>Frankliniella occidentalis</i> EM FEIJÃO-DE-PORCO <i>Canavalia ensiformis</i>	12
RESUMO.....	12
SUMMARY.....	13
3.1 INTRODUÇÃO.....	14
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.2.1 Sistema de criação de <i>Frankliniella occidentalis</i> em laboratório.....	15
3.2.2 Avaliação de parâmetros biológicos de <i>Frankliniella occidentalis</i>	17
3.2.2.1 Criação individual.....	17
3.2.2.2 Estimativa de produção do sistema de criação.....	18
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
3.3.1 Avaliação de parâmetros biológicos de <i>Frankliniella occidentalis</i>	20
3.3.2 Estimativa de produção do sistema de criação - determinação do número de descendentes.....	24

4	SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO AO CONTROLE DE <i>Frankliniella occidentalis</i>	27
	RESUMO.....	27
	SUMMARY.....	28
4.1	INTRODUÇÃO.....	29
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5	UTILIZAÇÃO DO FUNGO <i>Metarhizium anisopliae</i> NO CONTROLE DE <i>Frankliniella occidentalis</i> EM ALFACE SOB CULTIVO PROTEGIDO.....	44
	RESUMO.....	44
	SUMMARY.....	45
5.1	INTRODUÇÃO.....	46
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
6	CONCLUSÕES.....	58
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Sistema de criação de <i>Frankliniella occidentalis</i> desenvolvido no laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos (ESALQ/USP).....	19
2 Experimento de estimativa de produção do sistema de criação de <i>Frankliniella occidentalis</i> em laboratório.....	19
3 Período de desenvolvimento (ninfá 1 – adulto) de uma geração de <i>Frankliniella occidentalis</i> (n=15) sobre folha de feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis</i>) ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$; $98\pm 1\%$ de UR; fotofase de 12 horas).....	20
4. Dano direto provocado pelo ataque de <i>Frankliniella occidentalis</i> em folhas de feijão-de-porco <i>Canavalia ensiformis</i> em condições de laboratório.....	23
5 Placas plásticas contendo ágar+água e disco foliar utilizadas nos bioensaios de seleção dos isolados de fungos entomopatogênicos.....	33
6 Torre de Potter (Burkard Manufacturing Co Ltd.) utilizada nos bioensaios de seleção de isolados de fungos entomopatogênicos.....	33
7 Porcentagem de mortalidade corrigida de <i>Frankliniella occidentalis</i> após 2 e 4 dias da inoculação com diferentes isolados de fungos entomopatogênicos ($27 \pm 1^{\circ}\text{C}$; fotofase de 12 horas).....	38
8 A – Aspecto geral da área experimental; B – Bordadura sem plantas entre parcelas; C – Detalhe da pulverização; D – Detalhe da avaliação.....	49
9 A, B e C – Evolução dos sintomas de tospovírus em alface; D – Armadilha adesiva para captura de adultos.....	50
10 Eficiência de <i>Metarhizium anisopliae</i> (isolado 1104) no controle de <i>Frankliniella occidentalis</i> em cultivo de alface hidropônico no município de Holambra-SP, em 1998.....	52
11 Número médio de adultos de <i>Frankliniella occidentalis</i> por planta de alface em cultivo hidropônico no município de Holambra-SP, em 1998.....	53

12 Número médio de adultos de <i>Frankliniella occidentalis</i> capturados em armadilhas adesivas na cultura de alface hidropônico no município de Holambra-SP, em 1998.....	54
--	----

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Parâmetros biológicos da espécie <i>Frankliniella occidentalis</i> (média de 15 casais) sobre folhas de feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis</i>) ($27 \pm 1^\circ\text{C}$; 98 ± 1 de UR; fotofase de 12 horas) – Criação individual.....	23
2 Número de descendentes produzidos para a espécie <i>Frankliniella occidentalis</i> sobre plantas de feijão-de-porco em laboratório. Casais (n=15) mantidos por 4 dias para acasalamento e oviposição ($27 \pm 1^\circ\text{C}$; $98 \pm 1\%$ UR) – Criação múltipla.....	25
3 Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios com <i>Frankliniella occidentalis</i>	30
4 Mortalidade acumulada de ninfas de <i>Frankliniella occidentalis</i> inoculadas com fungos entomopatogênicos na concentração 1×10^8 conídios/ml ($27 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase de 12 horas).....	36
5 Número médio de adultos vivos de <i>Frankliniella occidentalis</i> por planta de alface em cultivo hidropônico tratados com diferentes concentrações de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Holambra-SP, 1998).....	51
6 Número médio de adultos de <i>Frankliniella occidentalis</i> mortos por <i>Metarhizium anisopliae</i> , por planta em cultivo comercial de alface hidropônico.....	55

SELEÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E CONTROLE DE *Frankliniella occidentalis* (THYSANOPTERA: THRIPIDAE)

Autor: ROGÉRIO BIAGGIONI LOPES

Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

RESUMO

No presente estudo desenvolveu-se um método de criação de *Frankliniella occidentalis* sobre *Canavalia ensiformis*, com o objetivo de fornecer insetos para estudos de biologia e controle da praga. Também avaliou-se a patogenicidade de 45 isolados de fungos entomopatogênicos para ninfas do tripses em laboratório, sob condições controladas (temperatura = $27 \pm 0,5$ °C; umidade relativa = $98 \pm 1\%$; fotofase = 12 horas). O fungo *Metarhizium anisopliae* mostrou-se altamente patogênico e virulento para a espécie, com média de 97% de mortalidade de ninfas após quatro dias para todos os isolados testados. Comprovou-se também a eficiência do isolado de *M. anisopliae* selecionado no controle de infestações naturais da praga em cultivos comerciais de alface hidropônico. A eficiência de controle atingiu 60%, seis dias após a primeira pulverização e nas parcelas que não receberam o tratamento com o patógeno observou-se um aumento populacional de 46,5%. O sistema de criação de *F. occidentalis* mostrou-se adequado, produzindo de forma prática um grande número de insetos para os bioensaios de laboratório. Foi possível selecionar isolados de *M. anisopliae* com grande potencial para utilização no controle do tripses em cultivos protegidos.

SELECTION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI IN THE CONTROL OF
***Frankliniella occidentalis* (THYSANOPTERA: THIRIPIDAE)**

Author: ROGÉRIO BIAGGIONI LOPES

Adviser: Prof. Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

SUMMARY

In the present study, a method of rearing *Frankliniella occidentalis* on *Canavalia ensiformis* was developed, with the objective of producing insects for studies on biology and control of the insect. Also, the pathogenicity of 45 isolates of entomopathogenic fungi to nymphs of the thrips *F. occidentalis* was evaluated in laboratory, under controlled conditions (temperature = $27\pm0.5^{\circ}\text{C}$; relative umidity = $98\pm1\%$; fotophase = 12 hours). All tested isolates of *Metarhizium anisopliae* were highly pathogenic and virulent to this species of thrips, causing an average of 97% mortality of nymphs four days after inoculation. One isolate of *M. anisopliae* was selected for tests of efficiency in the control of natural infestations of the insect in commercial areas of hidroponic lettuce. Six days after the first application, the efficiency of control was 60%. In the areas that did not receive the treatment with the pathogen a population increase of 46.5% was observed. The technique for rearing *F. occidentalis* developed in this study was proven to be feasible way of obtaining a large number of thrips for laboratory assays. It was possible to select an isolate of *M. anisopliae* with great potential for the control of the thrips in greenhouse.

1 INTRODUÇÃO

Os tripses são insetos de tamanho reduzido pertencentes à ordem Thysanoptera, com centenas de espécies já descritas em todo o mundo, distribuídas, principalmente, nas regiões tropicais. No Brasil, já foram listadas mais de 400 espécies de tripses (Mound & Marullo, 1996).

Muitos destes insetos possuem reconhecida importância econômica, como pragas em culturas comerciais, predadores de outros artrópodos ou agentes de controle de plantas daninhas. As espécies fitófagas, além do dano direto provocado pela alimentação nos tecidos vegetais, podem ser vetores de importantes viroses em diferentes culturas (Lewis, 1973).

Dentre as diferentes espécies que ocorrem no país, *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) possui grande importância em cultivos protegidos, principalmente na produção de plantas hortícolas e ornamentais. Destaca-se também pela transmissão de um complexo de viroses, que causam severas perdas em solanáceas, cucurbitáceas e outras culturas.

Em função da carência de informações sobre a espécie e da dificuldade de controle do inseto, os inseticidas químicos têm sido utilizados de maneira contínua e inadequada. Este fato tem resultado em problemas sérios relacionados com o desenvolvimento de resistência do inseto, contaminação de alimentos e poluição ambiental. Assim, são necessárias pesquisas sobre a utilização de métodos alternativos de controle para esta praga.

O controle microbiano com fungos entomopatogênicos, surge como prática importante dentro do integrado de *F. occidentalis* nas diferentes culturas. O estudo e o

entendimento das relações entre patógenos e hospedeiro, interagindo com o ambiente, são importantes para o desenvolvimento e utilização destes organismos em condições de campo.

Os objetivos do presente estudo foram: a) desenvolver uma técnica de criação e manutenção da espécie *F. occidentalis* em condições de laboratório, fornecendo insetos para estudos de biologia e controle da praga; b) selecionar isolados de fungos entomopatogênicos em condições de laboratório visando ao controle de *F. occidentalis*; c) testar a eficiência do isolado selecionado em infestações naturais da praga em alface hidropônico sob cultivo protegido.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais e aspectos bioecológicos de *Frankliniella occidentalis*

Os tripes são insetos pertencentes à ordem Thysanoptera e caracterizam-se principalmente pelo aparelho bucal do tipo sugador labial triqueta, com atrofia da mandíbula direita e segmento terminal do tarso típico (arólio vesiculiforme), além de possuírem asas franjadas quando presentes. Possuem coloração diversa e tamanho reduzido, variando entre 0,5 a 15 mm de comprimento (Lewis, 1973; Mound & Marullo, 1996).

Atualmente são conhecidas mais de 5.000 espécies de tripes, sendo que 93% pertencem às famílias Thripidae e Phlaeothripidae, dentro das subordens Terebrantia e Tubulifera, respectivamente. Os tripes estão distribuídos no mundo todo, ocorrendo uma predominância nas regiões tropicais. A grande maioria das espécies de importância econômica que ocorrem no Brasil é da família Thripidae (Lewis, 1973; Mound & Teulon, 1995).

O desenvolvimento dos tripes é intermediário, entre insetos holometabólicos e paurometabólicos, observando-se uma grande variação na biologia das espécies dentro da mesma ordem. O ciclo de vida envolve basicamente uma fase de ovo, geralmente dois instares ninfais ativos que se alimentam, seguidos de duas ou três “pupas” relativamente inativas, que provavelmente não se alimentam, e os adultos de um único ou ambos os sexos. A reprodução em geral, é sexuada e os machos são, provavelmente, haplóides e derivados de ovos não fertilizados, contudo, muitas espécies desenvolveram a habilidade

de reprodução na ausência do macho. Assim, a partenogênese torna-se importante na introdução e estabelecimento destas espécies em novas áreas (Palmer et al., 1989).

O gênero *Frankliniella* congrega, aproximadamente, 180 espécies sendo que 90% estão nas regiões neotropicais. Apesar do grande número de espécies, este gênero é relativamente homogêneo em relação à taxonomia e forma corpórea (Mound & Marullo, 1996).

O trips *F. occidentalis* foi registrado no Brasil, pela primeira vez, na cultura de crisântemo, por Monteiro (1994), contudo, possivelmente já ocorria no país atacando outras plantas. Esta espécie é altamente polífaga, tornando-se uma importante praga em diferentes culturas, principalmente sob condições de cultivo protegido. Existem relatos da associação de *F. occidentalis* com diferentes hospedeiros vegetais, incluindo importantes culturas comerciais e muitas espécies de plantas daninhas (Yudin et al., 1986; Yudin et al., 1988). Espalhou-se rapidamente por todo o mundo, em função do tamanho reduzido, do trânsito de material biológico auxiliado pelo grande número de hospedeiros vegetais e da enorme capacidade reprodutiva da espécie.

2.2 Danos e importância econômica de *Frankliniella occidentalis*

O trips *F. occidentalis* é principalmente fitófago, contudo, adultos e ninfas podem ser predadores, alimentando-se de ovos de ácaros e de outros insetos (Trichilo & Leigh, 1988; Wilson et al., 1996). A alimentação desses insetos em plantas tem como consequência a formação de manchas prateadas e deprimidas nos locais atacados, além de pontos enegrecidos pela deposição de gotas fecais. Nestas condições, são afetadas a capacidade fotossintética da planta e a qualidade dos produtos na comercialização. Muitas vezes, a alimentação de adultos nas flores pode danificar e impedir a formação de frutos.

Além do dano direto, provocado pela destruição de células do tecido vegetal durante o processo alimentar do inseto, algumas espécies do gênero *Frankliniella* são transmissoras de importantes fitoviroses. O vírus TSWV (*tomato spotted wilt virus*)

pertence ao gênero *Tospovirus*, o único dentro da família *Bunyaviridae* contendo vírus que infectam plantas. Esta virose é conhecida por causar severas perdas de produção e qualidade de plantas alimentícias e ornamentais, em regiões subtropicais e temperadas. O TSWV é transmitido de forma persistente entre plantas por pelo menos oito espécies de tripses; entretanto, a espécie *F. occidentalis* é o vetor mais importante associado a este vírus, onde já foi observada a multiplicação do patógeno no vetor (Ullman et al., 1995).

Os sintomas da doença são, em geral, anéis necróticos ou cloróticos nas folhas e frutos, mosaico, arroxamento ou bronzeamento nas folhas, nanismo, deformação foliar, estriamento e necrose nas hastes e freqüentemente morte da planta (Marchoux et al., 1991; Pozzer et al., 1995). Cho et al. (1987) observaram no Havaí perdas na cultura de alface de 50 a 90%, independente da época do ano. No Brasil, possivelmente ocorrem grandes perdas de produção em regiões de cultivo de tomate, alface e pimentão, em função da alta infestação da praga nessas culturas.

A aquisição das partículas virais ocorre somente quando o inseto encontra-se no primeiro ínstar ninfal. As ninfas, no entanto, não podem transmitir o vírus imediatamente, necessitando de um período de incubação (latência) de vários dias (German et al., 1992; Pozzer et al., 1995). Esta latência torna-se uma característica importante que deve ser considerada dentro de uma estratégia de controle do inseto e da doença.

A complexa relação entre espécies de tripses, doença e plantas hospedeiras, em alguns casos, ainda não foi totalmente esclarecida. Contudo, a epidemiologia da virose é afetada por inúmeros fatores, como por exemplo a distribuição das plantas hospedeiras do vírus e do vetor, que pode freqüentemente estar relacionada com a disseminação da doença. Em muitos casos, plantas daninhas também servem como hospedeiras do vírus e do tripses e são importantes na disseminação da virose em plantas cultivadas (Marchoux et al., 1991; Latham & Jones, 1997).

2.3 Controle

O controle de tripses vem sendo feito, principalmente, pelo uso de inseticidas químicos, contudo, pesquisas sobre outras táticas de controle da praga vêm sendo realizadas. Em algumas condições, como o cultivo protegido, existem disponíveis no mercado produtos biológicos à base de predadores e entomopatógenos. A utilização de armadilhas adesivas para captura de adultos também é freqüente para monitoramento de infestação e controle. Yudin et al. (1991) observaram que barreiras mecânicas restringem a movimentação de adultos, obtendo até 10% de redução no número de insetos capturados em parcelas entre barreiras. O uso de superfícies cobertas, outras práticas culturais e a procura de fontes de resistência ao vírus vêm sendo amplamente estudadas (German et al. 1992; De Jager et al, 1993; Pozzer et al., 1995).

Em relação à transmissão de tospovirose, as medidas de controle são sempre preventivas, tendo em vista a falta de produtos que possam controlar doenças causadas por vírus. Assim, uma das principais estratégias de controle da doença é a redução da população de vetores. Desta forma, procura-se eliminar os problemas causados pelo dano direto e as perdas de produção provocadas pela doença.

2.3.1 Controle químico

Atualmente, em função da falta de conhecimento sobre o manejo da praga e de novas alternativas efetivas de controle, a utilização de inseticidas tem grande importância para a manutenção dos baixos níveis populacionais dos insetos em culturas comerciais.

O controle químico vem sendo largamente estudado e utilizado contra o tripses *F. occidentalis*, principalmente em culturas sob cultivo protegido. Testes de laboratório e ensaios em condições de campo mostram uma grande variação na eficiência de controle de diferentes grupos de inseticidas para esta espécie (Helyer & Brobyn, 1992; Hata et al., 1993; Masís & Aagesen, 1993). Alguns inseticidas e óleos vegetais podem também

interferir no comportamento alimentar do inseto e reduzir a transmissão de viroses (Allen et al., 1993).

O controle químico de *F. occidentalis* é dificultado em função de características biológicas e comportamentais do inseto. A oviposição endofítica, a ocorrência de pupação no solo e a agilidade dos adultos protegem os insetos do contato com os inseticidas (Parrella, 1995). Entretanto, em alguns casos o tratamento de pré-pupas e pupas no solo também promove um controle efetivo da praga (Helyer et al., 1995).

A utilização contínua de inseticidas químicos para o controle da praga, freqüentemente, acarreta problemas de contaminação ambiental e de resíduos em alimentos (Alves et al., 1997). Muitos inseticidas, em determinadas condições, também possuem um efeito fitotóxico, limitando sua aplicação (Hata et al., 1993; Hara et al., 1995).

Dentre todos os problemas causados pela utilização inadequada dos pesticidas, o desenvolvimento de resistência de insetos aos diferentes grupos químicos surge como limitação principal no controle das pragas. Este fato vem se tornando um sério problema no controle de *F. occidentalis*. Além de observações em condições de campo, alguns estudos evidenciam a resistência desta espécie a diferentes inseticidas (Robb et al., 1995). Populações de campo mostraram níveis variáveis de resistência em laboratório para piretróides, carbamatos, organofosforados e para o grupo das abamectinas (Immaraju et al., 1992). Atualmente não existe uma solução única para o problema de resistência. O melhor enfoque baseia-se na integração de diferentes estratégias de manejo, incluindo medidas de controle cultural, físico e biológico (Robb & Parrella, 1995).

2.3.2 Controle biológico

A introdução do trips *F. occidentalis* em novas áreas, a rápida disseminação da espécie e os problemas causados pelo uso intensivo de inseticidas químicos, estimulou, nos últimos anos, a pesquisa sobre novas estratégias de controle. O interesse pela utilização de agentes de controle biológico aumentou em diversos países da Europa,

Estados Unidos e Canadá, sobretudo em cultivos protegidos comerciais (Fransen, 1990; Brodsgaard, 1995).

Alguns predadores, como espécies de ácaros do gênero *Amblyseius* (Acari: Phytoseiidae) e o antocorídio *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae), podem ser eficientes no controle de *F. occidentalis* (Gillespie & Quiring, 1992; Higgins, 1992; Van de Veire & Degheele, 1995). Em determinadas épocas do ano algumas espécies são comercialmente utilizadas em diferentes culturas, resultando na manutenção do equilíbrio biológico local (Van Houten & Van Stratum, 1995).

Estudos básicos em relação à utilização de parasitóides da família Eulophidae, principalmente a espécie *Ceranisus menes*, vêm sendo também realizados recentemente (Loomans et al., 1995; Murai & Loomans, 1995). Entretanto, em alguns casos, a utilização de agentes biológicos de controle pode ser indesejável, onde a presença de invertebrados mesmo que benéficos, é inaceitável no mercado (Jacobson, 1995).

Apesar da eficiência dos artrópodos predadores de tripes, principalmente ácaros, os entomopatógenos, por serem facilmente produzidos e por se assemelharem mais ao uso dos inseticidas químicos, representam alternativas práticas e viáveis para o controle de *F. occidentalis*, associados ou não aos inseticidas.

Inúmeros organismos podem infectar os diferentes grupos de insetos. Para tripes, estudos evidenciam a ocorrência de nematóides do gênero *Thripinema* infectando fêmeas de *F. occidentalis* e provocando esterilidade dos insetos. Aparentemente, os nematóides que deixam o corpo do inseto via excremento infectam ninfas sadias na própria planta (Greene & Parrella, 1995; Wilson & Cooley, 1972). Outros nematóides das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae também são patogênicos aos estágios de pré-pupa e pupa de *F. occidentalis* (Chyzik et al., 1996).

Os fungos entomopatogênicos são os organismos mais estudados e com grande potencial para o controle de pragas. Aproximadamente 80% das doenças em insetos têm como agentes etiológicos os fungos, pertencentes a cerca de 90 gêneros e mais de 700 espécies, sendo que a maioria dos gêneros já foram relatados no Brasil (Alves, 1998).

Existem muitos relatos sobre a ocorrência de fungos entomopatogênicos em tripses. Algumas espécies da ordem Entomophthorales (Zigomycetes) foram descritas infectando este grupo de insetos e provocando epizootias naturais. A patogenicidade do fungo *Entomophthora* spp. foi citada e a doença descrita para *Thrips* spp. (Carl, 1975; MacLeod et al., 1976) e *F. occidentalis* (Samson et al., 1979). Insetos infectados mostram, inicialmente, uma diminuição na movimentação e após a morte estruturas do patógeno cobrem o inseto. Condições específicas de umidade necessárias para o desenvolvimento da doença interferem na eficiência do fungo em condições de campo, contudo, esses agentes podem ser considerados promissores no controle de populações em cultivo protegido (Carl, 1975). O fungo *Neozygites parvispora* também foi relatado causando epizootias naturais sobre populações de *F. occidentalis* em cultivos protegidos (Vacante et al., 1994; Montserrat et al., 1998).

Apesar da eficiência de alguns zigomicetos em condições naturais a produção em grande escala destes fungos em meios artificiais simples é impraticável, dificultando sua utilização em tratamentos inoculativos. Tais agentes, provavelmente, possuem um papel importante no controle biológico natural, onde epizootias naturais estabilizam as populações de tripses no campo (Brownbridge, 1995).

A utilização de fungos como micoinseticidas requer condições viáveis de produção massal em substratos artificiais, características presentes nos Hyphomycetes. Entretanto, poucos estudos vêm sendo realizados para avaliação destes agentes no manejo de tripses.

O fungo *Verticillium lecanii*, provavelmente, é a espécie mais pesquisada e utilizada no controle de tripses em diferentes culturas. Skinner et al. (1991) isolaram *V. lecanii* de larvas de *Taeniothrips inconsequens* com sintomas da doença no solo. Os autores observaram índices de até 22% de insetos infectados em algumas regiões dos Estados Unidos.

A contaminação de ninfas e adultos de *F. occidentalis* com conídios e corpos hifais (blastosporos) de *V. lecanii*, para estágios imaturos do inseto inoculados logo após a eclosão ou próximo à pupação, evidenciaram uma similaridade na mortalidade. Diversas

linhagens do fungo, em diferentes populações do inseto podem provocar níveis de mortalidade variáveis (Moritz & Weiwad, 1996).

Existem no mercado vários produtos comercializados para uso em cultivos protegidos, sobretudo nos países europeus e nos Estados Unidos (Rombach & Gillespie, 1988; Fransen, 1990; Brownbridge, 1995). As formulações comerciais de *V. lecanii* permitem a sobrevivência do patógeno na folhagem por períodos consideráveis e o crescimento de estruturas infectivas em condições de umidade favorável. Van der Schaaf et al. (1990) observaram níveis de infecção maiores que 60% em populações de *F. occidentalis* através da aplicação do fungo *V. lecanii* (formulação comercial Mycotol PM) em pepino sob cultivo protegido.

Outras espécies de fungos apresentam também um grande potencial para utilização no controle de tripses. Castineiras et al. (1996) determinaram a eficiência de isolados de *Beauveria bassiana* e *Paecilomyces fumosoroseus* como agentes de controle biológico de *Thrips palmi*, em condições de cultivo protegido. Foram observadas reduções de até 53% na emergência de adultos quando o fungo *B. bassiana* foi pulverizado sobre o solo contendo pupas do inseto. Ninfas de *T. palmi* foram menos sensíveis ao tratamento com *B. bassiana*, com apenas 24% de ninfas infectadas. O isolado de *P. fumosoroseus* testado foi muito pouco patogênico para ninfas, com índices de mortalidade abaixo de 0,5%. O controle de pupas de *F. occidentalis* no solo também foi obtido por Heyler et al. (1995) para o fungo *Metarhizium anisopliae*, com uma eficiência de 74% quando aplicado no substrato de desenvolvimento da planta.

Em condições de laboratório, Vestergaard et al. (1995) testaram a patogenicidade de diferentes isolados de *M. anisopliae* e *V. lecanii* sobre *F. occidentalis*. O tratamento de adultos com *M. anisopliae* causou, no mínimo, 94% de mortalidade sete dias após a inoculação. A alta virulência dos isolados de *M. anisopliae*, provavelmente esteja relacionada com a ação de toxinas no processo de infecção. O fungo *V. lecanii* mostrou-se menos virulento e a mortalidade provocada pelos isolados testados variou entre 20 e 70%. As ninfas também foram menos suscetíveis à infecção por *M. anisopliae* do que adultos de *F. occidentalis*.

Experimentos de laboratório e campo mostraram a eficiência do fungo *Beauveria bassiana* (BotaniGard – Mycotech) no controle de *F. occidentalis* em cultivos protegidos de plantas ornamentais. Observou-se uma variação na mortalidade de adultos entre 29 e 82% em laboratório, dependendo da concentração, e uma redução de até 83% em áreas de cultivo de rosa. Os resultados demonstraram a alta eficiência do patógeno obtida em cultivo comercial de flores e o potencial de utilização nessas condições (Murphy et al., 1998).

A grande variabilidade genética dos fungos entomopatogênicos pode ser considerada uma das principais vantagens desses agentes no controle microbiano de insetos. Com técnicas apropriadas é possível selecionar isolados altamente virulentos, específicos ou não, com características adequadas para a utilização em programas de controle de pragas (Alves, 1998).

De todas as opções de controle biológico, os fungos entomopatogênicos são os mais viáveis para o uso contra tripses. Entretanto, o desenvolvimento de técnicas de criação e programas de seleção de isolados eficientes tornam-se necessários. Em alguns casos, aplicações desse patógeno podem não ser suficientes para o controle total da praga, mas a associação com insetos predadores ou inseticidas químicos em concentrações subletais podem reduzir populações a níveis aceitáveis.

3 CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE *Frankliniella occidentalis* EM FEIJÃO-DE-PORCO *Canavalia ensiformis*

RESUMO

A dificuldade de coleta de insetos no campo torna a criação de tripes em laboratório fundamental para o desenvolvimento de pesquisas. O objetivo do presente estudo foi desenvolver um sistema de criação de *F. occidentalis* em condições de laboratório, para o fornecimento de um grande número de insetos para pesquisas em biologia e controle da espécie. A colônia foi obtida pela multiplicação do tripes em um recipiente de acrílico sobre plantas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (Dicotyledonea: Fabaceae), com fornecimento suplementar de pólen para adultos. A temperatura e umidade relativa dentro do recipiente de criação foram mantidas entre 25 e 28°C e 80 e 95%, respectivamente. O tempo de desenvolvimento médio da espécie para casais individualizados foi em torno de nove dias, considerando-se o período da eclosão das primeiras ninfas até a emergência dos primeiros adultos, e o número de descendentes produzidos por fêmea foi de 14,3 ninfas. A longevidade de fêmeas foi, em média, 8,3 dias, e as viabilidades dos estágios de ninfas e pupas foram em torno de 83 e 90%, respectivamente. Estimou-se uma produção de 22,5 ninfas/fêmea em criação múltipla de casais, após um período de acasalamento e oviposição de 96 horas. No sistema de criação desenvolvido foram obtidas entre 50 e 150 ninfas de segundo ínstar por folha, sete dias após a introdução da planta no recipiente. Este sistema mostrou-se adequado, fornecendo de forma prática um grande número de insetos para experimentos de biologia e controle da praga.

LABORATORY TECHNIQUE FOR REARING *Frankliniella occidentalis* ON *Canavalia ensiformis*

SUMMARY

Due to the difficulty of capturing thrips in the field, laboratory rearing is essential for the development of basic research on biology and control of this species. The objective of the present study was to develop a technique to rear *F. occidentalis* under laboratory conditions. The insects were multiplied on plants of *Canavalia ensiformis* (L.) DC. (Dicotyledonea: Fabaceae) enclosed in an acrylic container, and the adults were also fed with pollen. The ranges of temperature and relative humidity inside of the rearing container were 25 to 28°C and 80 to 95%, respectively. The average time for development was nine days from the first nymphs to the the emergency of the first adult, and the average progeny was 14.3 nymphs/female. The longevity of females was 8.3 days, and the viability of the nymphs and pupae was 83 and 90%, respectively. The rearing of multiple couples yielded 22.5 nymphs/female after a mating and oviposition period of 96 hours. Between 50 and 150 nymphs of second instar were obtained per leaf, seven days after the placement of the plant in the container. The technique for rearing *F. occidentalis* developed in this study is a feasible way of obtaining large numbers of thrips for experiments on biology and control of this pest.

3.1 INTRODUÇÃO

A criação e manutenção de insetos sadios em laboratório é fundamental para o desenvolvimento de pesquisas básicas em Entomologia. A ausência de uma fonte contínua e padronizada de insetos no campo, dificuldade de coleta de grande número de indivíduos e a contaminação das plantas por outras espécies de insetos torna a criação de tripes indispensável para o desenvolvimento de trabalhos científicos (Doane et al., 1995). Desta forma, a necessidade de métodos simples de criação visando a obtenção de um grande número de indivíduos de mesma idade é evidente para bioensaios com inseticidas e entomopatógenos, e para o uso em outras áreas da Entomologia. Basicamente, os tripes fitófagos podem ser criados em dietas artificiais, fornecidas entre membranas, ou em plantas hospedeiras.

Diversos grupos de insetos são facilmente produzidos em dietas artificiais, fornecendo um suprimento de indivíduos uniforme em termos biológicos e nutricionais. Contudo, os tripes, assim como alguns hemípteros, pertencem a um grupo que, atualmente, é de difícil criação utilizando-se dietas artificiais (Parra, 1996). Técnicas de criação utilizando membranas de parafilme, como a desenvolvida por Teulon (1992), exigem um trabalho intensivo para a obtenção de um grande número de insetos.

Algumas espécies de tripes podem ser criadas em gaiolas sobre plantas inteiras em casa-de-vegetação (Tanigoshi & Nishio-Wong, 1981; Nugaliyadde & Heinrichs, 1984) e em condições de laboratório (Kinzer et al., 1972), ou sobre determinada parte vegetal (Bailey, 1932; Lewis, 1973). Em função de aspectos morfológicos e comportamentais da espécie, as gaiolas devem apresentar características que permitam a ventilação, visualização e iluminação, além de possibilitarem o controle das condições de umidade e temperatura e possuírem locais de pupação.

Doane et al. (1995) utilizando um método simples e rápido de criação, obtiveram um grande número de adultos e ninfas de *F. occidentalis* de idade conhecida. Os insetos foram criados sobre folhas de feijão, mantidas em caixas plásticas forradas com algodão umedecido. Sobre as folhas foi colocado pólen para alimentação

suplementar de adultos. As caixas foram vedadas e mantidas em uma câmara de criação com ventilação e fotofase controladas.

Para a criação bem sucedida de tripes é necessário o conhecimento de alguns aspectos básicos da biologia da espécie, que auxiliam também na melhor compreensão dos hábitos e fases do inseto e na programação de estratégias de controle da praga no campo. Neste caso, a busca destas informações só é possível quando se conhece a identidade específica do organismo. No Brasil, a espécie *F. occidentalis* foi registrada, pela primeira vez, na cultura de crisântemo, por Monteiro (1994); contudo, possivelmente já ocorria no país atacando outras culturas.

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um sistema de criação de *F. occidentalis* em condições de laboratório, oferecendo uma alternativa prática e eficiente para o fornecimento de um grande número de insetos para estudos de biologia e testes de seleção de patógenos visando o controle microbiano da espécie.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Sistema de criação de *Frankliniella occidentalis* em laboratório

A criação de *F. occidentalis* foi desenvolvida no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo em Piracicaba-SP. Na fase inicial, adultos e ninfas de *F. occidentalis* foram coletados em estufas de produção de alface hidropônico no município de Holambra-SP, sendo a espécie confirmada pela especialista Renata Chiarini Monteiro. Os insetos foram, inicialmente, multiplicados em casa-de-vegetação, também sobre alface, sob condições semelhantes às encontradas no local de origem. Grupos de insetos adultos foram transferidos para o sistema de criação em laboratório até o estabelecimento da colônia.

A colônia estoque foi obtida pela multiplicação dos insetos em um recipiente sobre plantas de feijão-de-porco *C. ensiformis*. O recipiente de criação consistiu de uma

caixa de acrílico (50 x 40 x 80 cm), totalmente vedada para evitar a fuga dos insetos, com duas tampas circulares (25 cm de diâmetro) presas por parafusos de aço e porcas de nylon na parte superior. O contato entre a tampa e a parte superior do recipiente foi protegido por uma tira de espuma densa de, aproximadamente, três milímetros. O fechamento da tampa sob pressão foi obtido pelos parafusos sobre a espuma, impossibilitando a fuga dos insetos (Figura 1). A troca contínua de ar com o exterior foi possibilitada através de orifícios laterais de 2,5 cm de diâmetro protegidos com tecido tipo “voil”. Um sistema de ventilação forçada através de pequenos compressores (Betta Silente - Glauber R.C.A. & Cia Ltda.), instalados na lateral inferior do recipiente, contribuiu para retirada do excesso de umidade do interior. Placas de Petri (15 cm de diâmetro) com vermiculita esterilizada foram colocadas no fundo do recipiente sob os vasos, fornecendo locais adequados para pupação.

A temperatura e umidade da sala foram controladas, refletindo em condições constantes dentro do recipiente de criação ($27 \pm 1^\circ\text{C}$; $98 \pm 1\%$ UR). A transparência do acrílico permitiu a entrada de luz natural para o bom desenvolvimento das plantas e dos insetos. A proteção contra luz, fornecida pelos locais para pupação, proporciona um desenvolvimento mais rápido e maior viabilidade da fase pupal (Brodsgaard, 1994).

As plantas foram cultivadas em copos plásticos com latossolo vermelho mais areia esterilizada (1:1), mantidos em casa-de-vegetação por um período de aproximadamente 10 dias, quando atingiram 20 cm de altura e com apenas o primeiro par de folhas completamente desenvolvido. Em cada copo plástico foram colocadas de sete a oito sementes, sendo posteriormente mantidas apenas cinco ou seis plantas. Foram mantidos no recipiente de criação de cinco e oito vasos e a substituição de plantas secas (já atacadas) por outras novas, ocorreu a cada dois dias ou quando necessário, a fim de manter a qualidade do substrato. Cada planta foi lavada com hipoclorito de sódio 0,5% e água destilada antes de passar para a colônia estoque, evitando contaminações fúngicas no tecido foliar e possíveis microrganismos entomopatogênicos.

As folhas de feijão-de-porco constituíram-se no substrato de oviposição e alimentação de adultos e ninfas de tripes. O fornecimento de pólen a cada dois dias, como

alimentação suplementar de adultos, teve como objetivo aumentar a capacidade reprodutiva da colônia (Annadurai & Morrison, 1987; Trichilo & Leigh, 1988). A pasta de pólen foi preparada com água destilada e pólen seco coletado por *Apis mellifera scutellata*, sendo oferecida na base do limbo foliar e na lateral interna da parede do recipiente.

3.2.2 Avaliação de parâmetros biológicos de *Frankliniella occidentalis*

3.2.2.1 Criação individual

Inicialmente, ninfas de segundo ínstar foram coletadas na colônia estoque e separadas em placas plásticas (6 cm de diâmetro), sendo alimentadas em folhas novas de feijão-de-porco até atingirem o estágio de “pupa”, quando já foi possível a determinação do sexo dos indivíduos (Lewis, 1973; Palmer et al., 1989). Assim, pupas que originariam fêmeas foram, posteriormente, individualizadas em placas plásticas transparentes (6 cm de diâmetro), contendo um disco de folha de feijão-de-porco (3,5cm de diâmetro) e pólen sobre um gel ágar-água 1% (metodologia adaptada de Vestergaard et al., 1995). Após a infestação dos discos, os insetos foram mantidos em câmara climatizada a 27 ± 1 °C, $98 \pm 1\%$ de UR e fotofase de 12 horas, sob condições semelhantes às fornecidas no sistema de criação citado anteriormente. Este sistema permite a troca constante de água entre o disco foliar e o gel, evitando o secamento precoce da folha e a morte dos insetos por afogamento.

Casais recém-emergidos foram mantidos juntos por 72 horas para o acasalamento. Após este período, os machos foram removidos e as fêmeas observadas durante toda sua vida. Ocorrendo a morte do macho nesta fase, procedeu-se à substituição imediata por outros machos mantidos na criação. A fêmea e as ninfas foram transferidas com um pincel umedecido para novos discos foliares após quatro dias, evitando-se qualquer interferência nos resultados em função da deterioração da folha.

Foram avaliados, diariamente, o número de descendentes por fêmea, mudança de instares, viabilidade de cada fase e o número de machos e fêmeas emergidos.

3.2.2.2 Estimativa de produção do sistema de criação

Para a avaliação do potencial do sistema de produção, foi instalada uma unidade semelhante à original em menor escala. Uma cuba cilíndrica de vidro com 20 cm de diâmetro e 42 cm de altura, invertida sobre um disco plástico de apoio, recebeu um vaso contendo cinco plantas de feijão-de-porco, com o primeiro par de folhas completamente desenvolvido (aproximadamente 20 cm de altura). A ventilação foi proporcionada pela abertura de orifícios laterais de 2,5 cm de diâmetro no recipiente e auxiliada por um pequeno compressor de ar (Betta Silente - Glauber R.C.A. & Cia Ltda.) (Figura 2).

Quinze casais oriundos da criação foram liberados no recipiente, permanecendo por 96 horas para acasalamento e oviposição, sendo os adultos removidos após este período. Nesta fase, os adultos também receberam alimentação suplementar de pólen a cada dois dias. O estudo foi desenvolvido na mesma sala de criação, fornecendo-se condições de temperatura, umidade e fotoperíodo semelhantes às do sistema original descrito anteriormente.

Foi avaliado o número médio de descendentes que eclodiram por planta, contando-se os insetos na fase imatura, estágio utilizado para os estudos de seleção de fungos entomopatogênicos. Analisando-se os parâmetros obtidos na biologia de casais e plantas inteiras, foi possível estimar a eficiência do sistema de criação.

Figura 1. Sistema de criação de *Frankliniella occidentalis* desenvolvido no laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos (ESALQ/USP).

Figura 2. Experimento de estimativa de produção do sistema de criação de *Frankliniella occidentalis* em laboratório.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Avaliação de parâmetros biológicos da espécie *Frankliniella occidentalis*

Foram avaliados dados biológicos obtidos de 15 fêmeas. A fase de ovo do ciclo biológico da espécie não foi determinada neste estudo, em função da oviposição ser endofítica, dificultando as observações de viabilidade e contagem dos ovos.

Figura 3. Período de desenvolvimento (ninfá 1 – adulto) de uma geração de *Frankliniella occidentalis* (n=15) sobre folha de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$; $98\pm 1\%$ de UR; fotofase de 12 horas).

Ninfas do primeiro ínstar (ninfá 1) foram visíveis na superfície do disco foliar com apenas quatro dias após a formação dos casais (Figura 3). Nesta fase, as ninfas são pequenas e brancas, iniciando a alimentação logo após a eclosão. As ninfas de segundo

ínstar (ninfã 2) começaram a surgir a partir do sexto dia, quando se constatou a maior concentração de ninfas 1. São maiores, possuem coloração amarelada e, geralmente, apresentam a porção intestinal esverdeada, em função da alimentação constante. Após o desenvolvimento completo, as ninfas de segundo ínstar esvaziam todo o trato digestivo antes de tornarem-se “pré-pupas”, passando para uma coloração amarelo-pálida. Na fase de ninfa, principalmente no segundo ínstar, o inseto causa na planta, em função do processo alimentar, os danos mais significativos. O limbo foliar apresenta inicialmente manchas deprimidas prateadas que se desenvolvem para necrose, alterando assim a capacidade fotossintética da folha (Figura 4). A “pré-pupa” ocorreu decorridos 8 dias, e após 9 dias surgiram as primeiras “pupas”. Os dois ínstares pupais (pré-pupa/pupa) são praticamente imóveis e não se alimentam, diferenciando-se entre si pelo tamanho das tecas alares e das antenas e sua posição em relação à cabeça. As “pré-pupas” apresentam tecas alares pequenas e as antenas voltadas para frente, enquanto que as “pupas” possuem tecas alares maiores e as antenas sobre a cabeça. Os primeiros adultos emergiram com 12 dias, mas a maioria dos insetos teve sua emergência 14 dias após a formação dos casais. O tempo de desenvolvimento médio para a espécie, da eclosão das primeiras ninfas até a emergência dos primeiros adultos, foi em torno de 9 dias e toda descendência de cada casal demorou em média 18 dias, da eclosão da primeira ninfa até a emergência do último adulto (Figura 3).

A longevidade de fêmeas foi em média 8,3 dias, com um mínimo de 5 e máximo de 12 dias. O número de descendentes produzidos por fêmea, não sendo observada a fase de ovo, foi de 14,3 ninfas em média. A viabilidade dos estágios de ninfa (ninfã 1 + ninfã 2) e “pupa” (pré-pupa + pupa) foi em torno de 83 e 90%, respectivamente (Tabela 1).

Resultados semelhantes foram encontrados por Gaum et al. (1994) e Van Rijn et al. (1995), com o tempo de desenvolvimento médio da fase imatura em plantas de pepino (*Cucumis sativus*), excluindo a fase de ovo, sendo em torno de 10 dias na temperatura de 25°C. Também Gerin et al. (1994) obtiveram dados correspondentes em feijão, com aproximadamente 10,3 dias a 25°C. Sabe-se, contudo, que a diminuição da temperatura provoca um alongamento do ciclo biológico do inseto. A temperatura em que foram

conduzidos os experimentos foi de $27\pm1^{\circ}\text{C}$, promovendo assim uma diminuição do ciclo biológico da espécie. Lowry et al. (1992) observaram resultados ligeiramente inferiores em plantas de amendoim (*Arachis hypogaea*), em torno de 7,5 dias a 25°C , e Teulon (1992) em pimentão (*Capsicum annuum*), com 7,3 dias a 27°C . Esta pequena variação entre autores, e a viabilidade das diferentes fases imaturas, pode estar relacionada com características nutricionais da planta hospedeira, bem como aos diferentes “strains” utilizados, metodologia de criação, etc.

Diversas pesquisas relatam que a longevidade de adultos decresce com o aumento da temperatura, possivelmente pelo maior esforço reprodutivo em temperaturas elevadas, o que resulta também em uma maior oviposição e, conseqüentemente, maior número de ovos por fêmea. Na temperatura de 25°C , a longevidade de fêmeas criadas sobre pepino foi de 12,8 dias, produzindo 9,65 ovos (Gaum et al., 1994). Lowry et al. (1992) observaram também a 25°C , uma longevidade muito menor em insetos criados em amendoim, ou seja, somente 2,33 dias e com uma postura de 9,44 ovos por fêmea. Apesar da menor longevidade de fêmeas obtida no presente estudo, o número de descendentes produzidos foi maior para a espécie criada sobre feijão-de-porco (Tabela 1).

A elevada porcentagem de adultos machos emergidos em relação às fêmeas ocorreu em função de algumas fêmeas (7 fêmeas) que, provavelmente, não foram fecundadas no período de acasalamento, produzindo somente descendentes machos (Tabela 1). Na ausência de machos, fêmeas de *F. occidentalis* apresentam reprodução partenogenética arrenótoca (Palmer et al., 1989). Contudo, fêmeas fertilizadas produzem descendentes de ambos os sexos, com o número de fêmeas sendo de duas a três vezes maior que o número de machos (Gerin et al., 1994; VanRijn et al., 1995). Parte da grande variação encontrada na longevidade de fêmeas e na viabilidade das fases imaturas, pode estar relacionada com a planta hospedeira adotada nos testes e a manipulação constante, considerando-se a fragilidade dos insetos. Entretanto, a metodologia de discos foliares sobre ágar-água mostrou-se prática e adequada para estudos de biologia.

Tabela 1. Parâmetros biológicos da espécie *Frankliniella occidentalis* (média de 15 casais) sobre folhas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$; 98 ± 1 de UR; fotofase de 12 horas) – Criação individual.

VALORES n = 15	Longevidade (dias)	Nº de descendentes	Viabilidade (%)		Emergência (%)	
			N1+N2*	PP+P1**	Macho	Fêmea
Média	8,3	14,3	83,5	90,5	72,7	27,3
Erro Padrão	0,583	2,02	3,67	2,27	1,20	0,66
Variação	5 - 12	6 - 34	50 - 100	75 - 100	-	-

* N1+N2 – Σ ninfas 1 e 2; ** PP+P1 – Σ pré-pupa e pupa

Figura 4. Dano direto provocado pelo ataque de *Frankliniella occidentalis* em folhas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* em condições de laboratório.

3.3.2 Estimativa de produção do sistema de criação e determinação do número de descendentes

No experimento de determinação do número estimado de descendentes produzidos pelo sistema de criação foi avaliado o comportamento de 15 casais, número correspondente ao estudo de biologia individual em placas. Desta forma, tornou-se possível a comparação direta de alguns parâmetros entre os sistemas de criação múltipla e individual no presente estudo.

O número total de insetos produzidos, após um período de acasalamento e oviposição de 96 horas, foi de 338 ninfas. A maioria das ninfas (83,2%) encontrava-se no segundo ínstar 8 dias após a liberação dos casais nas plantas, sendo o restante dos insetos (16,8%) ninfas ainda de primeiro ínstar. Não foram observados insetos nas fases de pré-pupa e pupa. Nestas condições, o número médio de descendentes produzidos por fêmea foi de 22,5 ninfas, valor maior do que o observado na avaliação individual de casais onde as fêmeas permaneceram para oviposição no disco foliar durante toda a vida. A produção média obtida no sistema foi de aproximadamente 67 insetos em cada planta (Tabela 2).

Nos testes de biologia individual de casais em placas, cada fêmea produziu, em média, 14,3 ninfas, valor 36,4% inferior ao observado na criação em plantas inteiras. Gaum et al. (1994) também obtiveram números inferiores para fêmeas de *F. occidentalis* criadas em discos foliares de pepino. O maior número de descendentes observado neste experimento, mesmo com um período de oviposição de apenas 4 dias, provavelmente, esteja relacionado com condições mais adequadas para reprodução dos insetos encontradas neste sistema. Características físicas do substrato de alimentação e oviposição, o comportamento sexual dos insetos, como a importância do voo no acasalamento (VanRijn et al., 1995), e principalmente as condições microclimáticas no recipiente, mostraram-se importantes para o aumento da produção em criações em laboratório. A ventilação constante do sistema foi essencial na retirada do excesso de umidade do interior do recipiente. A alta umidade promove a condensação de água nas

paredes, o que causa a morte dos insetos adultos por afogamento, além de favorecer o desenvolvimento de doenças fúngicas sobre as folhas.

Tabela 2. Número de descendentes produzidos para a espécie *Frankliniella occidentalis* sobre plantas de feijão-de-porco em laboratório. Casais (n=15) mantidos por 4 dias para acasalamento e oviposição ($27 \pm 1^\circ\text{C}$; $98 \pm 1\%$ UR) – Criação múltipla.

Nº total de insetos encontrados*		Nº médio de insetos / planta (erro padrão)	Nº médio de insetos / fêmea
Ninfa 1	Ninfa 2		
57	281	67,6 (13,46)	22,5

*após 8 dias da formação dos casais

A ausência dos estágios imaturos de pré-pupa e pupa, bem como adultos, na avaliação do teste de produção está certamente relacionada com o curto período de condução do experimento, totalizando apenas 8 dias, da liberação dos casais até a fase final. Como foi observado na biologia individual de casais, as pré-pupas começam a surgir após o oitavo dia da formação dos casais, e os adultos com 12 dias. Para o estudo mais completo do ciclo de desenvolvimento da espécie *F. occidentalis*, testes semelhantes devem ser conduzidos com um período de avaliação maior.

Estima-se que nas condições oferecidas pelo sistema de criação original, o número de insetos produzidos por planta seja ainda maior, principalmente em função do grande número de fêmeas aptas para oviposição na troca de vasos durante a manutenção da colônia. Em observações periódicas foram quantificadas entre 50 e 150 ninfas de segundo instar por folha de feijão-de-porco 7 dias após a introdução da planta no recipiente. Como existem cerca de 70 folhas nesse período, o número de indivíduos disponíveis poderá ser de aproximadamente 3.500 a 10.000 tripes envolvendo as diferentes fases imaturas e adultos. A fecundidade e o aumento populacional parecem ser bastante influenciados pela densidade de adultos e condições da planta hospedeira. A

seleção de plantas suscetíveis e sadias e a frequência de fornecimento de novas plantas são importantes para a obtenção de um número elevado de descendentes por fêmea na criação.

O presente método de criação do trips *F. occidentalis* em laboratório é adequado, fornecendo de forma prática um grande número de insetos para experimentos de biologia e controle da praga. Desta forma, todos os insetos originam-se da mesma colônia estoque, gerando indivíduos de espécie determinada e populações geneticamente homogêneas. Outros métodos de criação necessitam de muito tempo e trabalho de manutenção, nem sempre fornecendo um grande número de insetos nas diferentes fases do ciclo biológico da espécie. Neste sistema, a manutenção e monitoramento da colônia, com um gasto máximo de 2 horas de trabalho por dia, ocorre apenas a cada 2 dias, envolvendo basicamente a troca de plantas no recipiente. Assim, estima-se que o custo de manutenção da criação por um técnico seja de aproximadamente U\$ 150,00 por mês e o custo de instalação do sistema em torno de U\$ 550,00.

4 SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO AO CONTROLE DE *Frankliniella occidentalis*

RESUMO

Neste trabalho avaliou-se a patogenicidade de 45 isolados dos fungos *Beauveria* spp., *M. anisopliae*, *Paecilomyces* spp., *V. lecanii* e *Nomuraea rileyi* para ninfas do trips *F. occidentalis* em condições de laboratório. Os insetos foram pulverizados com uma suspensão de 1×10^8 conídios/ml sobre discos foliares de *C. ensiformis* e mantidos sob condições controladas (temperatura = $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$; umidade relativa = $98 \pm 1\%$; fotofase = 12 horas) durante quatro dias. Isolados de *N. rileyi* e *P. lilacinus* não foram patogênicos ou causaram mortalidade abaixo de 25%. Os fungos *V. lecanii*, *P. fumosoroseus* e *P. farinosus* causaram mortalidade de 58,6 a 79,3%, sendo pouco virulentos. Para *Beauveria* spp. observou-se uma grande variação na patogenicidade, obtendo-se para o melhor isolado (868) 93% de mortalidade após quatro dias da inoculação. O fungo *M. anisopliae* foi o mais patogênico para *F. occidentalis*, com média de 97,3% de mortalidade de ninfas após quatro dias para todos os isolados testados. O isolado 1104 provocou 93,3% de mortalidade após 24 horas da inoculação das ninfas. A alta virulência de *M. anisopliae*, provavelmente devido à ação de toxinas, é uma característica importante e desejável na estratégia de manejo da praga em cultivos protegidos.

SELECTION OF ENTOMOPATOGENIC FUNGI IN THE CONTROL OF *Frankliniella occidentalis*

SUMMARY

The pathogenicity of 45 fungal isolates to nymphs of *F. occidentalis* was evaluated under laboratory conditions. Conidial suspensions (1×10^8) of isolates of *Beauveria* spp., *M. anisopliae*, *Paecilomyces* spp., *V. lecanii* and *Nomuraea rileyi* were inoculated on leaf disks of *C. ensiformis* which were then maintained under controlled conditions (temperature = 27 ± 0.5 °C; relative humidity = $98 \pm 1\%$; photophase = 12 hours) for four days. *N. rileyi* and *P. lilacinus* isolates killed less than 25% of the nymphs, or they were not pathogenic. The fungi *V. lecanii*, *P. fumosoroseus* and *P. farinosus* caused mortality between 58.6 and 79.3% and were considered of low virulence. For *Beauveria* spp. a great variation was observed in the pathogenicity, and the best isolate (868) caused 93% of mortality four days after the inoculation. The fungus *M. anisopliae* was the most pathogenic to *F. occidentalis*, with an average of 97.3% nymph mortality four days after application, for all tested isolates. The strain 1104 caused 93.3% of mortality 24 hours after the inoculation of the nymphs. The high virulence of *M. anisopliae* is an important and desirable characteristic for the development of a strategy of pest management in greenhouse conditions.

4.1 INTRODUÇÃO

A seleção de isolados de fungos para o controle de uma praga é de extrema importância para o desenvolvimento de um programa de controle microbiano. A grande variabilidade genética dos fungos entomopatogênicos pode ser considerada uma das principais vantagens desses agentes no controle de pragas. Com técnicas apropriadas é possível selecionar isolados altamente virulentos, específicos ou não, com características adequadas para o controle da praga de maneira eficiente (Alves, 1998).

Existem diversos relatos na literatura destacando a variabilidade genética entre diferentes isolados de uma mesma espécie de fungo. Testes de patogenicidade, principalmente com as espécies *M. anisopliae* e *B. bassiana*, foram realizados visando ao controle de cupins (Almeida, 1994; Almeida et al, 1997; Neves, 1998), pragas de grãos armazenados (Moino Jr. et al., 1998), ácaros (Tamai, 1997) e baratas (Vieira et al., 1993; Manzini et al., 1998). Estes estudos evidenciam a grande especificidade de determinados isolados para uma praga e a importância dos testes de seleção para esses entomopatógenos em um programa de controle microbiano.

Outras características além da patogenicidade e virulência, como a resistência a condições adversas, taxa de crescimento e produção de conídios em meio artificial, capacidade de disseminação e seletividade a inseticidas químicos são desejáveis na seleção do agente de controle microbiano (Alves et al., 1984; Frigo & Azevedo, 1986; Paccola-Meirelles & Azevedo, 1990; Alves, 1998).

Determinadas características do agente de controle microbiano são de extrema importância e geralmente necessárias para o controle de algumas pragas que apresentam alta capacidade reprodutiva e ciclo de vida reduzido. Assim, para tripes, principalmente as espécies vetoras de doenças e para culturas que suportam um baixo nível de dano, devem ser selecionados isolados altamente virulentos que reduzam a população da praga em um curto período de tempo. Nesta situação, mostra-se adequada a estratégia de introdução inundativa que tem o objetivo de promover um impacto semelhante ao proporcionado por um inseticida químico sobre a população da praga.

O objetivo deste estudo foi o de selecionar isolados de fungos entomopatogênicos altamente virulentos e promissores para o controle de *F. occidentalis*, praga importante de diversas culturas conduzidas em cultivo protegido.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Nos testes de seleção de fungos patogênicos ao trips *F. occidentalis*, foram utilizados isolados de *Beauveria* spp., *M. anisopliae*, *Paecilomyces* spp., *V. lecanii* e *Nomuraea rileyi*, preservados no banco de entomopatógenos do laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP. Foram testados 45 isolados procedentes de hospedeiros e solos coletados em diversas regiões do Brasil (Tabela 3).

Tabela 3 - Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios com *Frankliniella occidentalis*.

ISOLADO	PATÓGENO	PROCEDÊNCIA	HOSPEDEIRO
PL 63	<i>Beauveria bassiana</i>	Piracicaba - SP	<i>Atta</i> sp.
307	<i>Beauveria bassiana</i>	Araras - SP	<i>Diatraea saccharalis</i>
447	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis invicta</i>
498	<i>Beauveria bassiana</i>	Piracicaba - SP	<i>Dorcacerus barbatus</i>
512	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis invicta</i>
548	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis</i> sp.
604	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuiabá - MT	Amostra de solo
618	<i>Beauveria bassiana</i>	Goiânia - GO	<i>Tibraca limbativentris</i>
619	<i>Beauveria bassiana</i>	Goiânia - GO	Pentatomidae
621	<i>Beauveria brongniartii</i>	Alambari - SP	<i>Solenopsis saevissima</i>

Tabela 3 - Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios com *Frankliniella occidentalis* (continuação).

ISOLADO	PATÓGENO	PROCEDÊNCIA	HOSPEDEIRO
634	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis invicta</i>
743	<i>Beauveria bassiana</i>	Belém Novo - RS	<i>Solenopsis</i> sp.
747	<i>Beauveria bassiana</i>	Tramandaí - RS	<i>Solenopsis</i> sp.
760	<i>Beauveria bassiana</i>	Alcântara - SC	<i>Cornitermes cumulans</i>
868	<i>Beauveria bassiana</i>	Goiânia - GO	Formicidae
908	<i>Beauveria</i> sp.	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis</i> sp.
969	<i>Beauveria bassiana</i>	Piracicaba - SP	<i>Blattella germanica</i>
986	<i>Beauveria bassiana</i>	Piracicaba - SP	<i>Boophilus</i> sp.
1006	<i>Beauveria bassiana</i>	Piracicaba - SP	Coccinellidae
E9	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Boca da Mata - PE	<i>Mahanarva posticata</i>
PL 43	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Fleixeira - AL	<i>Mahanarva posticata</i>
319	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Goiânia - PE	<i>Mahanarva posticata</i>
798	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis invicta</i>
816	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Piracicaba - SP	Amostra de solo
866	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Goiânia - GO	<i>Atta</i> sp.
935	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Itabuna - BA	<i>Diatraea saccharalis</i>
1037	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Porto Alegre - RS	<i>Solenopsis</i> sp.
1076	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Arapongas - PR	Amostra de solo
1104	<i>Metarhizium anisopliae</i>	S.J. do Piauí - PI	Amostra de solo
1204	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Piracicaba - SP	<i>Mahanarva fimbriolata</i>
1220	<i>Metarhizium anisopliae</i>	desconhecida	<i>Oncometopia</i> sp.
581	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis invicta</i>
592	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Lavras - MG	<i>Solenopsis</i> sp.

Tabela 3 - Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios com *Frankliniella occidentalis* (continuação).

ISOLADO	PATÓGENO	PROCEDÊNCIA	HOSPEDEIRO
623	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Cuiabá - MT	Amostra de solo
668	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Porto Feliz - SP	<i>Solenopsis</i> sp.
827	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Piracicaba - SP	Amostra da solo
1113	<i>Paecilomyces</i> sp.	Piracicaba - SP	<i>Colaspis</i> sp.
1145	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Piracicaba - SP	<i>Sarsina</i> sp.
1200	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Amélio Rodrigues-BA	<i>Mahanarva posticata</i>
1205	<i>Paecilomyces farinosus</i>	Santa Fé do Sul - SP	<i>Bemisia tabaci</i>
1214	<i>Paecilomyces</i> sp.	Soiré - PE	<i>Plutella</i> sp.
949	<i>Verticillium lecanii</i>	Polônia	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>
950	<i>Verticillium lecanii</i>	Indonésia	<i>Coccus viridis</i>
972	<i>Verticillium lecanii</i>	Piracicaba - SP	<i>Coccus viridis</i>
1217	<i>Nomuraea rileyi</i>	Pelotas - RS	<i>Spodoptera</i> sp.

A multiplicação de cada isolado foi feita em placas de Petri sobre meio de cultura MC (meio completo), com a seguinte composição: 1000 ml de água destilada; 20,0 g de ágar (Difco); 1,0 g de cloreto de potássio (KCl); 5,0 g de extrato de levedura; 0,36 g de fosfato de potássio (KH_2PO_4); 1,05 g de fosfato de sódio ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); 10,0 g de glucose; 1,58 g de nitrato de sódio (NaNO_3) e 0,6 g de sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

Figura 5. Placas plásticas contendo ágar+água e disco foliar utilizadas nos bioensaios de seleção dos isolados de fungos entomopatogênicos.

Figura 6. Torre de Potter (Burkard Manufacturing Co Ltd.) utilizada nos bioensaios de seleção de isolados de fungos entomopatogênicos.

Após o período de 10 dias de incubação (26 ± 1 °C; fotofase de 12 horas), os conídios, obtidos pela raspagem das placas com uma espátula de borracha, foram suspensos em água estéril com espalhante adesivo (Tween® 40 – 0,2 ml/litro). Em seguida, a suspensão foi diluída para posterior contagem em câmara de Neubauer e padronização da concentração. Foi avaliada também a viabilidade inicial de todos os isolados antes dos bioensaios de seleção, para possíveis correções quando necessárias.

Grupos de ninfas de *F. occidentalis* de mesma idade (2^o ínstar) foram transferidos para placas plásticas transparentes (6 cm de diâmetro) contendo um disco de folha de feijão-de-porco de 3,5 cm de diâmetro sobre uma camada de ágar-água 1% (10 ml) (metodologia adaptada de Vestergaard et al.,1995). Desta forma, o ágar proporcionou condições adequadas para a conservação dos discos foliares, fornecendo um substrato alimentar adequado aos insetos e evitando a morte dos mesmos por afogamento (Figura 5). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 repetições por tratamento. Cada repetição foi constituída de uma placa com 5 insetos, totalizando 30 insetos por tratamento. Este número de insetos utilizado nos experimentos foi determinado pela disponibilidade de ninfas oriundas da criação e em função da grande quantidade de isolados testados na fase de seleção. A inoculação do patógeno foi feita através da pulverização de 2 ml de uma suspensão 1×10^8 conídios viáveis/ml sobre a placa contendo os insetos e o disco foliar, utilizando-se uma Torre de Potter (Burkard Manufacturing Co Ltd.) com pressão de 15 libras/pol² (Figura 6). Nestas condições, obteve-se um volume aproximado de 0,2 µl de suspensão/cm² de área. Na testemunha, os insetos foram pulverizados somente com água estéril mais espalhante adesivo. Após a inoculação, os recipientes com os insetos foram mantidos em câmara climatizada a 27 ± 1 °C e fotofase de 12 horas durante todo o período experimental.

Efetuararam-se avaliações diárias, durante um período de 4 dias, suficiente para determinação da mortalidade de insetos em cada tratamento. Para um período maior de avaliação nestas condições foi observada a deterioração do disco foliar interferindo nos resultados dos experimentos. Diariamente, os insetos mortos foram lavados com álcool 70% por 15 segundos e água destilada por 30 segundos, para descontaminação externa.

Em seguida, os insetos foram transferidos para placas plásticas com papel de filtro umedecido para confirmação da morte pelo patógeno.

A seleção dos melhores isolados foi baseada na porcentagem de mortalidade dos insetos durante o período de avaliação, determinando-se assim a patogenicidade e virulência de cada fungo para *F. occidentalis*. Foram selecionados isolados com mortalidade corrigida acima de 95% após 2 dias da inoculação, não justificando-se a seleção de isolados abaixo deste índice de mortalidade devido à alta concentração de inóculo utilizada nos experimentos. Para cada bioensaio, a porcentagem de mortalidade de ninfas no tratamento foi corrigida através da aplicação da fórmula de Abbott (1925).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos testes de seleção de fungos patogênicos ao tripses *F. occidentalis* observou-se uma grande variação na patogenicidade e virulência dos diferentes isolados, com viabilidade de 98 a 100%. A maioria desses isolados (44 dos 45 testados) apresentaram níveis diferenciados de patogenicidade e somente um isolado não foi patogênico (isolado 581 de *Paecilomyces* sp.). Esta variação, representada pela porcentagem de mortalidade de ninfas tratadas, ocorreu não somente entre as espécies de fungos, como também entre diferentes isolados de uma mesma espécie (Figura 7).

A mortalidade confirmada, representada pelo número de cadáveres nos quais se observou a emergência e reprodução do patógeno, variou entre 0 e 96,6%, para os isolados testados (Tabela 4). Os maiores índices de mortalidade confirmada foram obtidos com os isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

O fungo *M. anisopliae* foi mais patogênico que as outras espécies testadas. Todos os isolados causaram mais de 85% de mortalidade corrigida de ninfas 4 dias após a inoculação. Além da alta patogenicidade também observou-se elevado grau de virulência da espécie *M. anisopliae*, destacando-se os isolados 1220 e 1104 com 86,6% e 93,3% de mortalidade corrigida respectivamente, apenas um dia após a inoculação. Em geral, para outros insetos, o pico de mortalidade ocorre de 4 a 8 dias após a infecção (Alves, 1998).

Tabela 4. Mortalidade acumulada de ninfas de *Frankliniella occidentalis* inoculadas com fungos entomopatogênicos na concentração 1×10^8 conídios/ml (27 ± 1 °C; fotofase de 12 horas).

ISOLADOS	% MORTALIDADE CORRIGIDA				% MORT. CONFIRMADA
	DIAS APÓS A INOCULAÇÃO				
	1	2	3	4	
<i>Metarhizium anisopliae</i>					
E9	33,3	81,5	88,4	88,4	53,3
PL 43	26,6	93,3	96,5	96,5	83,3
319	86,6	90,0	92,8	92,8	3,3
798	66,6	96,6	100,0	100,0	16,6
816	80,0	96,6	100,0	100,0	23,3
866	76,6	96,5	96,5	96,5	30,0
935	60,0	80,0	93,1	93,1	80,0
1037	56,6	96,3	100,0	100,0	86,6
1076	46,6	96,6	100,0	100,0	76,6
1104	93,3	96,6	96,6	100,0	96,6
1204	40,0	86,6	100,0	100,0	33,3
1220	86,6	100,0	100,0	100,0	53,3
MÉDIA	62,7	92,5	97,0	97,3	53,0
<i>Beauveria bassiana</i>					
PL 63	3,3	14,8	44,4	76,9	50,0
307	3,3	16,6	31,0	42,8	23,3
447	3,3	25,9	55,5	65,4	43,3
498	0,0	23,3	50,0	79,3	50,0
512	0,0	3,3	30,0	55,2	36,6
548	10,0	33,3	58,6	89,3	70,0
604	0,0	13,3	43,3	55,2	30,0
618	0,0	0,0	16,6	55,2	46,6
619	0,0	3,3	33,3	66,6	46,6
621	0,0	6,6	26,6	50,0	16,6
634	0,0	6,6	23,3	31,0	30,0
743	3,3	16,6	46,6	82,7	76,6
747	0,0	0,0	13,3	58,6	50,0

Tabela 4. Mortalidade acumulada de ninfas de *Frankliniella occidentalis* inoculadas com fungos entomopatogênicos na concentração 1×10^8 conídios/ml (27 ± 1 °C; fotofase de 12 horas) (continuação).

ISOLADOS	% MORTALIDADE CORRIGIDA				% MORT. CONFIRMADA
	DIAS APÓS A INOCULAÇÃO				
	1	2	3	4	
<i>Beauveria bassiana</i>					
760	0,0	3,3	20,0	34,5	33,3
868	0,0	0,0	53,3	93,1	93,1
908	0,0	10,0	26,6	75,8	70,0
969	0,0	16,6	41,4	67,8	30,0
986	6,6	26,6	48,3	64,3	26,6
1006	0,0	13,3	44,8	53,6	26,6
MÉDIA	1,5	12,3	37,2	63,0	44,7
<i>Verticillium lecanii</i>					
949	0,0	0,0	8,9	44,3	33,3
950	0,0	0,0	6,9	10,7	10,0
972	0,0	0,0	0,0	46,6	16,6
MÉDIA	0,0	0,0	5,2	33,8	19,9
<i>Paecilomyces sp.</i>					
581	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
592	0,0	0,0	6,9	7,1	7,1
623	0,0	3,3	16,6	26,6	23,3
668	0,0	0,0	0,0	7,1	7,1
827	0,0	0,0	0,0	6,6	3,3
1113	0,0	0,0	10,0	20,7	6,6
1145	3,3	20,0	57,1	67,8	50,0
1200	0,0	13,3	36,6	58,6	50,0
1205	0,0	20,0	43,3	79,3	46,6
1214	0,0	23,3	55,2	67,8	30,0
MÉDIA	0,3	8,0	22,6	34,1	22,4
<i>Nomuraea rileyi</i>					
1217	0,0	10,0	10,0	10,3	0,0

Figura 7. Porcentagem de mortalidade corrigida de *Frankliniella occidentalis* após 2 e 4 dias da inoculação com diferentes isolados de fungos entomopatogênicos ($27 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase de 12 horas).

Foi entre os isolados de *B. bassiana* que se observou a maior variação em relação à patogenicidade e virulência para o tripses *F. occidentalis*. Os valores de mortalidade de ninfas variaram de 31 a 93,1% após 4 dias da inoculação. Os isolados 548 e 868 atingiram níveis de mortalidade próximos a 90% nesse período. Apesar da mortalidade elevada esses foram menos virulentos que *M. anisopliae* (Tabela 4). A menor virulência de *B. bassiana* pode estar relacionada com o processo de infecção e colonização do fungo. Foi observado nos insetos mortos sintomas e sinais típicos de infecções causadas por esta espécie de fungo, como a coloração rosada provocada pela ação da oosporina e a conidiogênese branca sobre os cadáveres (Alves, 1998).

Foram testados apenas três isolados de *Verticillium lecanii*, que causaram mortalidade de 10 a 33%, valores abaixo da média dos 45 isolados ao segundo (31,9%) e quarto (62,6%) dia (Figura 7). Em contraste aos isolados de *M. anisopliae*, as ninfas tratadas com *V. lecanii* começaram a morrer somente após o terceiro dia, próximo do período em que finalizaram-se as avaliações, demonstrando a baixa virulência desses entomopatógenos para a praga (Tabela 4). O reduzido número de isolados de *V. lecanii* no banco de entomopatógenos não permitiu um estudo de seleção mais detalhado para a espécie.

Foram estudadas também as espécies *Paecilomyces lilacinus* (isolados 623, 668 e 827), *P. farinosus* (isolado 1205) e *P. fumosoroseus* (isolados 1145 e 1200), além de um isolado de *Nomuraea rileyi*. Os isolados de *P. lilacinus* foram pouco patogênicos para ninfas de tripes com índices de mortalidade não ultrapassando 30% (Figura 7). Contudo, testes de seleção com um número maior de isolados são necessários. Esta espécie de fungo, geralmente, está associada a nematóides de solo mostrando-se efetiva no controle desses organismos (Jatala, 1986; Cabanillas & Barker, 1989; Alves, 1998). Não foi observada relação entre a patogenicidade de um determinado isolado com sua procedência. Aparentemente, a patogenicidade é independente do hospedeiro ou local de origem do isolado (Brownbridge, 1995; Vestergaard et al., 1995).

As outras espécies pertencentes ao gênero *Paecilomyces* foram mais eficientes para ninfas, causando mortalidade entre 58,6 e 79,3%. Somente o isolado 1113, uma espécie morfológicamente diferenciada e ainda não caracterizada, mostrou uma reduzida mortalidade, em torno de 20% após 4 dias (Figura 7). *P. fumosoroseus* já foi relatado como um patógeno com potencial para a utilização no controle de pragas em casa-de-vegetação (Fransen, 1990; Osborne et al., 1990).

O isolado de *N. rileyi* foi pouco patogênico para tripes, atingindo no máximo 10% de mortalidade de ninfas (Figura 7). O baixo índice de mortalidade para *N. rileyi* deve estar relacionado ao seu espectro de hospedeiros, quase exclusivamente constituído de lagartas de lepidópteros. Além da baixa eficiência, a dificuldade de produção e

preservação desta espécie de fungo, até o presente momento, dificulta sua utilização para o controle de tripses.

A mortalidade confirmada, não foi utilizada como critério de seleção nesta fase, evitando excluir isolados promissores que promoveram alta mortalidade corrigida. A rápida infecção de ninfas para alguns isolados, principalmente para *M. anisopliae*, pode favorecer o desenvolvimento de bactérias oportunistas antes da total colonização do hospedeiro pelo patógeno, interferindo nos resultados de confirmação da morte do inseto pelo fungo. A esporulação do fungo sobre o cadáver do inseto é importante na disseminação do patógeno e contaminação de indivíduos sadios. Contudo, a estratégia de aplicação inundativa, preconizada no controle de tripses, visa eliminar rapidamente uma grande população de insetos. Em algumas culturas, como as de consumo “*in natura*”, a presença de insetos mortos com estruturas do patógeno pode até provocar uma maior desvalorização do produto.

Diversos estudos também comprovam a grande variação na patogenicidade e virulência de diferentes isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de tripses, ressaltando a importância e necessidade da fase de seleção (Brownbridge, 1995; Vestergaard et al., 1995; Castineiras et al., 1996). Brownbridge (1995) observou variações na patogenicidade de mais de 150 isolados de fungos testados contra *F. occidentalis*. Isolados das espécies *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *V. lecanii*, em geral, foram mais eficazes no controle da praga, contudo, *P. farinosus* e *P. fumosoroseus* também foram eficientes.

A especificidade ou a maior adaptação de um isolado de fungo a determinado hospedeiro pode ser claramente observada em bioensaios de seleção. Tamai (1997), selecionando isolados para o controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae*, observou que o fungo *M. anisopliae* foi pouco patogênico para esta praga. No entanto, obteve 80% de mortalidade para o isolado 307 de *B. bassiana*, 4 dias após a inoculação. Contudo, a eficiência do mesmo isolado 307 para a espécie de tripses *F. occidentalis* foi abaixo de 45% de mortalidade e neste caso o fungo *M. anisopliae* foi patogênico para o tripses. Da mesma forma que alguns isolados são muito específicos muitos apresentam alta eficiência

de controle para mais de uma praga. O isolado 1104 de *M. anisopliae*, selecionado como um dos mais virulentos para tripes, mostrou-se também eficiente para o controle da barata *Blattella germanica* (Manzini et al., 1998).

A maioria dos trabalhos de seleção de isolados e utilização de fungos no controle de tripes, principalmente na Europa, está relacionada com a espécie *V. lecanii*, em produtos comerciais eficientes no controle da praga em condições de casa-de-vegetação (Rombach & Gillespie, 1988; Fransen, 1990; Van der Schaaf et al., 1990). Entretanto, no presente experimento, isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram mais patogênicos. Apesar da diferença entre as estruturas infectivas do fungo *V. lecanii* encontradas nas formulações comerciais (blastósporos) e nas utilizadas nos experimentos (conídios), aparentemente não existem variações em relação à infectividade e virulência das duas estruturas para a espécie *F. occidentalis* (Moritz & Weiwad, 1996).

Os processos de infecção e colonização dos fungos sobre determinada praga são muito influenciados pela temperatura e umidade (Alves, 1998). Sabe-se assim, que a faixa ótima de temperatura para *V. lecanii* encontra-se entre 20 e 25 °C, diferente da temperatura média de 27°C em que foram conduzidos os bioensaios de seleção. Em regiões tropicais, este fator abiótico pode proporcionar uma maior eficiência de controle pelo fungo *M. anisopliae*, adaptado às temperaturas mais elevadas. Provavelmente, a baixa eficiência de controle dos isolados de *V. lecanii* também esteja relacionada com características genéticas, reforçando a importância da seleção e a necessidade de novos testes com outros isolados desta espécie.

A alta virulência do fungo *M. anisopliae* sobre *F. occidentalis* foi também observada por Vestergaard et al. (1995) em testes de seleção. Os isolados de *M. anisopliae* testados foram mais patogênicos que isolados de *V. lecanii*, com valores de TL_{50} bem inferiores. A germinação dos conídios na superfície do inseto ocorre rapidamente e decorridas apenas 24 horas da inoculação iniciou-se o processo de penetração. O arqueamento do abdome e a contração das pernas foram os dois sintomas característicos de insetos infectados e mortos por *M. anisopliae*. A morte rápida dos insetos provocada por *M. anisopliae*, provavelmente está relacionada com a ação de

destruxinas e/ou outras substâncias químicas produzidas no processo de infecção (Roberts, 1969; Vestergaard et al., 1995; Alves, 1998; Neves, 1998). Estas toxinas podem também explicar o comportamento típico observado em insetos infectados.

O efeito rápido do fungo *M. anisopliae*, controlando altas populações em um curto período, pode ser uma característica importante e desejável na estratégia de manejo a ser adotada. Assim, para culturas de ciclo curto com baixo nível de dano econômico, como o cultivo do alface, a utilização de inseticidas químicos é freqüente no controle de tripes, certamente deixando resíduos nos produtos que são consumidos “*in natura*”. Para espécies de tripes transmissoras de viroses em algumas culturas, como o caso de *F. occidentalis*, também torna-se necessário o controle imediato da praga (German et al., 1992). Além disso, em muitas culturas ornamentais e hortícolas, a aplicação de fungicidas é freqüente, exigindo que o isolado de *M. anisopliae* colonize rapidamente o inseto para que não tenha sua eficiência comprometida pela ação do produto químico. Aplicações do fungo *M. anisopliae* dentro de uma estratégia adequada de manejo, associado ou não a inseticidas compatíveis, podem reduzir em grande parte o custo de controle da praga e a contaminação dos produtos. Atualmente, a diferenciação de produtos, principalmente os de consumo “*in natura*”, através do uso de inseticidas biológicos no tratamento fitossanitário visando a obtenção do “selo verde” vem sendo cada vez mais exigida. Desta forma, produtos diferenciados acabam agregando mais valor em função da grande demanda, refletindo em um lucro maior ao produtor.

Muitas pragas que ocorrem em cultivos protegidos, como pulgões e moscas-brancas, são infectadas por diferentes espécies de fungos (Rombach & Gillespie, 1988; Wraight et al. 1998). A seleção de isolados que possa atuar sobre diferentes pragas em um mesmo ambiente torna-se também uma característica importante e desejável dentro do processo de seleção. O isolado PL 63, selecionado para o controle do ácaro rajado, *T. urticae*, atingiu níveis satisfatórios de mortalidade (75%) após 4 dias para ninfas de tripes, evidenciando o potencial deste isolado no controle múltiplo de algumas pragas (Tamai, 1997).

Assim, foi possível selecionar 6 isolados de *M. anisopliae* altamente virulentos e promissores para o controle de *F. occidentalis*. O isolado 1104 foi o mais virulento, atingindo 93,3% de mortalidade corrigida decorridas apenas 24 horas da aplicação, sendo posteriormente utilizado nos testes de eficiência de controle de *F. occidentalis* em plantio de alface em casa-de-vegetação.

5 UTILIZAÇÃO DO FUNGO *Metarhizium anisopliae* NO CONTROLE DE *Frankliniella occidentalis* EM ALFACE SOB CULTIVO PROTEGIDO

RESUMO

O tripses *F. occidentalis* provoca grandes prejuízos em cultivos comerciais de alface, através do dano direto durante a alimentação no tecido vegetal e pela transmissão de virose. O desenvolvimento de novas estratégias de controle da praga em cultivos protegidos (estufas) vem se tornando necessário em função dos problemas acarretados pelo uso constante de inseticidas químicos. Foi avaliada a eficiência de pulverizações do fungo *M. anisopliae* (isolado 1104) nas concentrações de 5×10^6 e 1×10^8 conídios/ml, visando o controle da praga em cultivos de alface hidropônico. Foi observado o número de adultos por planta, comparando-se com o levantamento populacional inicial. A eficiência de controle do fungo nas duas concentrações chegou a 60%, seis dias após a primeira pulverização. Nas parcelas que não receberam o tratamento com o patógeno observou-se um aumento populacional de 46,5%. Contudo, o número de adultos capturados em armadilhas adesivas foi semelhante para áreas tratadas e não tratadas, evidenciando a alta mobilidade da praga na cultura. Constatou-se também um número crescente de adultos mortos com estruturas do patógeno nas parcelas pulverizadas com o fungo. A ausência de toxicidade e período de carência dos fungos entomopatogênicos tornam estes microrganismos importantes na substituição de alguns inseticidas químicos na cultura do alface. Estudos mais detalhados sobre a utilização do fungo *M. anisopliae* em cultivos protegidos são necessários para aplicações em grande escala.

CONTROL OF *Frankliniella occidentalis* IN LETTUCE USING *Metarhizium anisopliae*

SUMMARY

The thrips *F. occidentalis* causes significant losses in areas of lettuce production by damaging the leaf tissue during feeding and by vectoring pathogenic viruses. The development of new strategies for the control of thrips in greenhouses is necessary to address the problems caused by the constant use of chemical insecticides. The efficiency of applications of *M. anisopliae* (strain 1104), in the concentrations of 5×10^6 and 1×10^8 conidia/ml, was evaluated for the control of thrips in areas of hidroponic lettuce production. It was observed the number of adults per plant, comparing with initial infestation. The applications of the fungus, in both concentrations, caused a 60% reduction of the thrips population, 6 days after the first application. In areas that did not receive the treatment with the fungus, the thrips population increased by 46.5%. However, the number of adults captured in sticky traps was similar for treated and non-treated areas, suggesting a high mobility of thrips adults in the greenhouse. It was also observed a high number of dead adults with fungal structures in the areas treated with *M. anisopliae*. The apparent health and environmental safety of this entomopathogenic fungus makes this microorganism a promising alternative to chemical insecticides in lettuce production. More detailed studies about the interaction of thrips and the use of *M. anisopliae* under greenhouse conditions are necessary to make applications in large scale viable.

5.1 INTRODUÇÃO

O tripses *Frankliniella occidentalis* é uma das mais importantes pragas em cultivos protegidos, principalmente de plantas ornamentais e hortícolas. Altas infestações podem provocar danos consideráveis e grandes perdas de produção, afetando também a qualidade dos produtos e sua comercialização (Fransen, 1990; Murphy et al., 1998).

Além do dano direto, provocado pela alimentação do inseto no tecido vegetal, a espécie *F. occidentalis* é transmissora do vírus TSWV (*tomato spotted wilt virus*). No Brasil, este vírus foi descrito inicialmente por causar a doença do vira-cabeça-do-tomateiro, no entanto, atualmente é considerado como um dos principais complexos virais em hortaliças e plantas ornamentais (German et al., 1992; Pozzer et al., 1996). Na cultura do alface, a virose causa manchas necróticas nas folhas e estrias necróticas nas nervuras centrais, promovendo elevadas perdas na produção (Cho et al., 1987; Marchoux et al., 1991).

Estratégias de controle desta praga baseiam-se, predominantemente, em aplicações repetidas de inseticidas, até a redução da população a níveis aceitáveis. A utilização intensiva de produtos químicos resultou em sérios problemas de desenvolvimento de resistência da praga a diferentes grupos de inseticidas (Immaraju et al., 1992; Robb et al., 1995). Além disso, o pequeno número de inseticidas registrados para a cultura do alface dificulta o manejo da praga, e o uso de produtos não seletivos e ilegais agrava ainda mais os problemas relacionados com resíduos e contaminação de alimentos.

Uma alternativa potencial para o controle de *F. occidentalis* em cultivos protegidos é a utilização de fungos entomopatogênicos. Características de alguns hifomicetos como a facilidade de produção e aplicação, especificidade e a ausência de toxicidade, permitem a associação destes organismos com outras táticas de controle, viabilizando sua utilização em grandes áreas. Algumas formulações comerciais de fungos entomopatogênicos para o controle de *F. occidentalis* em cultivos protegidos já podem

ser encontradas no mercado internacional, reduzindo populações da praga, principalmente, em plantas ornamentais.

O objetivo deste experimento foi o de avaliar a eficiência de controle do isolado 1104 de *M. anisopliae*, selecionado anteriormente, para o tripses *F. occidentalis* na cultura de alface hidropônico em cultivo protegido.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma propriedade de produção de alface hidropônico em cultivo protegido, no município de Holambra-SP, durante o período de 21 de outubro a 3 de novembro de 1998. Através de identificações em laboratório foi constatada uma alta infestação da espécie *F. occidentalis* na cultura.

O experimento foi conduzido em uma área experimental de 110 m², sobre três mesas de produção (20 m de comprimento x 1,8 m de largura e 1 m de altura), cultivadas com alface *Lactuca sativa* (Compositae) variedade “Vera”, de 15 a 20 dias após a semeadura (fase de terminação). Todas as plantas receberam o mesmo tratamento químico na fase de sementeira (Acefato 100 gramas/100 litros + Imidacloprid 30 gramas/100 litros) e nenhum outro tratamento foi feito após o transplantio.

O experimento constou de 3 tratamentos: *M. anisopliae* (isolado 1104) nas concentrações de 5×10^6 e 1×10^8 conídios/ml e a testemunha, com 5 repetições de 5,4 m² cada, totalizando aproximadamente 80 plantas por repetição. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Entre as repetições de cada mesa foi mantida uma faixa de 0,4 m de largura sem plantas, como uma bordadura visando reduzir a migração de adultos entre os tratamentos, sendo de 0,8 m a distância entre mesas. Cada repetição recebeu uma armadilha adesiva (Sticky StripsTM – Oslon Products) na parte central, presa a 20 cm acima das plantas para a captura de adultos. A área experimental foi isolada nas duas laterais maiores utilizando-se lonas plásticas de 1,8 m de altura. Esta proteção foi feita com a finalidade de minimizar a migração de tripses de áreas adjacentes (Figura 8A e B).

O fungo utilizado no experimento foi produzido no laboratório, em bandejas plásticas sobre arroz pré-cozido, pelo método Biomax[®] (Alves & Pereira, 1989). As suspensões foram preparadas fazendo-se a lavagem do arroz em água destilada com espalhante adesivo (Tween 40[®] – 0,2 ml/litro), sendo posteriormente filtradas e diluídas nas concentrações referidas. O tratamento testemunha recebeu apenas água destilada com espalhante adesivo.

As aplicações foram realizadas através da pulverização da suspensão de conídios com o auxílio de um pulverizador costal Jacto PJH (bico cone JD-12P), no final da tarde, período em que a temperatura (27 a 30°C) era menos prejudicial ao patógeno (Figura 8C). Durante a fase de terminação da cultura de 21 dias, foram feitas duas aplicações, aos 7^º e 13^º dias após o transplante na mesa final, nos dias 21 e 27 de outubro, respectivamente. Antes da primeira aplicação foi efetuado um levantamento populacional para determinação da infestação inicial de tripes na cultura. Foram utilizados 13,5 litros de suspensão por tratamento (500 ml/m²), volume que permitiu a boa cobertura das plantas sem grandes perdas por escorrimento.

Foram feitas duas avaliações após a primeira pulverização, nos dias 23 e 27 de outubro, e mais duas após a segunda pulverização, nos dias 30 de outubro e 3 de novembro. Cada avaliação consistiu na coleta aleatória de uma planta de alface por repetição e contagem do número de adultos vivos e mortos. As plantas foram cortadas na base e manipuladas sobre uma bandeja plástica branca, permitindo a visualização dos insetos adultos (Figura 8D). Os insetos mortos foram mantidos em placas com algodão umedecido para confirmação da mortalidade pelo patógeno. Foram também quantificados o número de plantas com sintomas de virose em cada parcela e o número de tripes capturados pelas armadilhas adesivas, nos dias 27 de outubro e 3 de novembro (Figura 9A, B, C e D).

O número de insetos em plantas de alface, obtido para cada avaliação, foi submetido a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). Foram calculadas também a eficiência de controle do fungo *M. anisopliae* nas duas concentrações através da fórmula de Henderson & Tilton (1955).

Figura 8. A – Aspecto geral da área experimental; B – Bordadura sem plantas entre parcelas; C – Detalhe da pulverização; D – Detalhe da avaliação.

Figura 9. A, B e C – Evolução dos sintomas de tospovírus em alface; D – Armadilha adesiva para captura de adultos.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No levantamento inicial realizado no dia 21 de outubro não se observou diferença significativa em relação ao número de adultos vivos por planta entre os três tratamentos. Com 2 dias após a primeira aplicação (23/10), o fungo *M. anisopliae* na concentração de 1×10^8 conídios/ml reduziu em 38% a população de *F. occidentalis* em relação à testemunha, e após 6 dias (27/10) a redução foi de 47,2%. A concentração de 5×10^6 conídios/ml também promoveu uma redução populacional em torno de 50%, com apenas seis dias após a primeira pulverização (27/10). Nas duas concentrações não se verificou diferença significativa entre os três tratamentos para uma única pulverização. Após 2 dias da segunda aplicação (30/10) constatou-se diferença entre a maior concentração e a testemunha. Na última avaliação os tratamentos novamente se igualaram, provavelmente, pela migração de insetos. Nas parcelas que não receberam o tratamento com o fungo, a população de tripes aumentou a partir da segunda avaliação, atingindo uma média de 20 adultos vivos por planta no final do período experimental. Esta média corresponde a um aumento de 46,5% no número de insetos adultos observados por planta no início do experimento (Tabela 5).

Tabela 5. Número médio de adultos vivos de *Frankliniella occidentalis* por planta de alface em cultivo hidropônico tratados com diferentes concentrações de *Metarhizium anisopliae* (Holambra-SP, 1998).

Tratamentos (conídios/ml)	Levantamento	Datas de avaliação			
	21/10*	23/10	27/10*	30/10	03/11
Testemunha	14,2±1,71 a	14,2±1,98 a	14,4±3,07 a	16,8±3,47 a	20,8±3,15 a
5×10^6	14,5±6,24 a	11,4±2,40 a	7,4±1,86 a	10,4±3,72 ab	15,8±4,24 a
1×10^8	18,2±1,59 a	8,8±2,35 a	7,6±2,69 a	4,2±1,28 b	10,0±3,49 a
CV (%)	29,6	43,9	59,2	64,7	52,7

médias seguidas de letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

*avaliação e pulverização

O fungo *M. anisopliae* reduziu igualmente a população de *F. occidentalis* independentemente da concentração utilizada. Assim, na primeira aplicação o patógeno apresentou uma eficiência de controle de aproximadamente 45% e 60% após 2 e 6 dias, respectivamente. Neste caso, a menor concentração pode ser economicamente viável para utilização em plantios de alface hidropônico no manejo de tripes. Após a segunda pulverização, a eficiência do fungo na concentração mais elevada atingiu 80% no terceiro dia (Figura 10). No controle microbiano de pragas, essa eficiência é satisfatória, considerando o fungo entomopatogênico o único agente inseticida.

Figura 10. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (isolado 1104) no controle de *Frankliniella occidentalis* em cultivo de alface hidropônico no município de Holambra-SP, em 1998.

Na última avaliação, que coincidiu com o final do ciclo de produção do alface, foi observado um aumento do número de insetos por planta em todos os tratamentos (Tabela 5 e Figura 11). O crescimento das plantas e o aumento do número de folhas provocou um adensamento da cultura no final do ciclo, levando a uma desuniformidade

por ocasião da segunda pulverização com conseqüência na eficiência do fungo. Além disso, a movimentação de adultos entre parcelas da área experimental e de áreas adjacentes foi provavelmente a responsável pelo aumento da população na avaliação final.

A migração de insetos pode ser comprovada pela proporção de adultos capturados pelas armadilhas adesivas nos diferentes tratamentos. Na primeira avaliação, seis dias após a pulverização, o número de insetos capturados em armadilhas foi semelhante entre os três tratamentos, contudo, o número médio de insetos nas plantas amostradas foi 50% menor nas parcelas tratadas com fungo, quando comparadas com a testemunha após o mesmo período, o que comprova a eficiência do produto na proteção das plantas tratadas. A mesma tendência também foi observada sete dias após a segunda pulverização (3/11) (Figura 12).

Figura 11. Número médio de adultos de *Frankliniella occidentalis* por planta de alface em cultivo hidropônico no município de Holambra-SP, em 1998.

Figura 12. Número médio de adultos de *Frankliniella occidentalis* capturados em armadilhas adesivas na cultura de alface hidropônico no município de Holambra-SP, em 1998.

O número de insetos mortos por planta, nos tratamentos 5×10^6 e 1×10^8 conídios/ml aumentou gradualmente com as avaliações (Tabela 6). No dia 27 de outubro o número médio de insetos mortos na área tratada com a maior concentração foi significativamente maior que os demais tratamentos, e após a segunda pulverização este número foi equivalente ao número de indivíduos vivos observados nas plantas tratadas. Todos os insetos mortos coletados e mantidos em condições de alta umidade apresentaram estruturas reprodutivas do fungo, confirmando a causa da mortalidade. Na testemunha também foram encontrados insetos mortos por *M. anisopliae*, contudo, em número reduzido. É possível que esses insetos tenham migrado da área tratada para a testemunha.

Tabela 6. Número médio de adultos de *Frankliniella occidentalis* mortos por *Metarhizium anisopliae*, por planta em cultivo comercial de alface hidropônico.

Tratamentos conídios/ml	Datas de avaliação					
	21/10*	23/10	27/10	27/10*	30/10	03/11
Testemunha		0,2±0,20 a	1,0±0,68 a		0,4±0,40 a	0,0±0,00 a
5x10 ⁶		1,2±0,98 a	2,6±0,25 a		2,0±0,63 a	4,0±1,14 b
1x10 ⁸		1,3±0,68 a	3,5±1,03 b		3,3±1,32.a	9,2±1,43 c
CV(%)		18,1	31,2		87,4	53,6

médias seguidas de letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

*pulverizações

A movimentação de adultos de tripses em determinadas culturas é freqüente. No cultivo de alface, a migração destes insetos de áreas próximas parece estar relacionada com a preferência alimentar da espécie. Segundo Bautista & Mau (1994), a preferência para alimentação e oviposição de *F. occidentalis* em alface no estágio vegetativo foi maior em relação a outros quatro hospedeiros testados, além de proporcionar um melhor desenvolvimento das fases imaturas. Estes resultados sugerem que plantas novas de alface são muito suscetíveis à infestação por *F. occidentalis*.

O comportamento de migração de adultos de *F. occidentalis* também foi observado por Murphy et al. (1998) em plantas ornamentais. Após o tratamento de flores de cravo com o fungo *Beauveria bassiana*, o número de insetos aumentou em todas as parcelas, influenciando os resultados das avaliações. Os autores observaram também a presença de insetos mortos com estruturas do patógeno nas parcelas da testemunha, resultado da dispersão de insetos infectados das parcelas tratadas, confirmando a migração de adultos na cultura.

No cultivo protegido de alface, a perda de produção relacionada com a incidência de virose, provavelmente, está ligada com a migração de insetos contaminados com o tospovirus de outras áreas para dentro da cultura (Bautista & Mau, 1994). No presente experimento, plantas com sintomas de virose foram observadas nas avaliações

finais. Plantas doentes surgiram inicialmente em parcelas próximas às áreas de cultivo de rosa e crisântemo, e o avanço da doença na cultura ocorreu para outras plantas dentro destas parcelas. Algumas espécies de flores como o crisântemo e plantas daninhas, além de fonte de pólen na alimentação de adultos de tripes, podem atuar como reservatório natural de Tospovírus (Latham & Jones, 1997). A rápida disseminação da virose no alface em algumas parcelas foi influenciada, principalmente, pela movimentação de insetos contaminados da área cultivada com flores, auxiliados pelo vento. A escolha da área experimental tem grande importância na determinação correta dos parâmetros de controle da praga, evitando possíveis problemas provocados pela migração de adultos.

A eficiência de controle de ninfas de *F. occidentalis* em bioensaios de laboratório pelo isolado 1104 de *M. anisopliae* na concentração 1×10^8 conídios/ml (item 4) foi superior à observada no experimento de campo. A redução da eficiência do patógeno em aplicações de campo ocorre frequentemente, e deve-se a fatores externos que influenciam no desenvolvimento da doença no inseto. Em função desta interferência, torna-se necessária a seleção de isolados virulentos em condições laboratório, para a obtenção de resultados promissores em um programa de controle microbiano.

Alguns fungos entomopatogênicos, principalmente *V. lecanii*, vêm sendo amplamente utilizados comercialmente para o controle de tripes em plantas ornamentais sob cultivos protegidos (Rombach & Gillespie, 1988; Fransen, 1990; Van der Schaaf et al., 1990). Em experimentos de campo, o fungo *B. bassiana* também mostrou resultados promissores para o controle de *F. occidentalis* em flores (Murphy et al., 1998).

A redução do número de adultos de *F. occidentalis* em plantas de alface foi comprovada, entretanto, não atingindo níveis de controle que eliminassem os danos diretos e indiretos provocados pela praga. Estes resultados de controle foram certamente influenciados pela reinfestação que ocorreu na área em função da pequena dimensão do experimento e da grande área infestada pelo tripes. Por outro lado, foi observada uma grande redução do número de ninfas por planta nas parcelas tratadas com o fungo *M. anisopliae*. Bioensaios de seleção de isolados em laboratório confirmaram a grande sensibilidade de ninfas desta espécie ao isolado testado. Assim, observações que

considerem a mortalidade de fases imaturas da praga podem indicar uma maior eficiência de *M. anisopliae* para o controle do inseto.

A frequência de pulverizações e a concentração mais adequada do produto também devem ser observadas para o uso do agente microbiano dentro de uma estratégia de manejo da praga em cultivos de alface. Como foi constatado, concentrações mais baixas podem proporcionar um controle equivalente a concentrações mais elevadas, permitindo uma maior frequência de aplicações sem grande aumento de custo. Aplicações em áreas maiores podem evitar as migrações observadas nesta pesquisa, viabilizando a estratégia de controle microbiano da praga. A ausência de toxicidade e período de carência dos fungos entomopatogênicos tornam estes microrganismos importantes na substituição parcial dos inseticidas químicos na cultura, que têm sua utilização limitada na fase de terminação em função dos altos índices de resíduos deixados nas folhas.

As condições de umidade e temperatura encontradas em ambientes protegidos favorecem a atividade do patógeno e o desenvolvimento da doença. Desta forma, o presente trabalho demonstra a possibilidade de utilização do fungo *M. anisopliae* para o controle de *F. occidentalis* na cultura do alface dentro de uma estratégia de manejo integrado da praga.

6 CONCLUSÕES

- O método de criação do tripes *F. occidentalis* desenvolvido no presente estudo mostrou-se adequado, fornecendo de forma prática um grande número de insetos para experimentos de biologia e seleção de isolados.
- É possível selecionar isolados de *M. anisopliae* altamente virulentos e promissores para o controle de *F. occidentalis*.
- O isolado 1104 de *M. anisopliae* é promissor para o controle de *F. occidentalis* na cultura do alface utilizando a estratégia de manejo integrado da praga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.

ALLEN, W.R.; TEHRANI, B.; LUFT, R. Effect of horticultural oil, insecticidal soap, and film-forming products on the western flower thrips and the tomato spotted wilt virus. **Plant Disease**, v. 77, n. 9, p. 915-918, 1993.

ALMEIDA, J.E.M. Avaliação de fungos entomopatogênicos visando ao controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) (Isoptera: Rhinotermitidae). Piracicaba, 1994. 105p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of the termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). **Journal of Applied Entomology**, v.121, p. 539-543, 1997.

ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M.P. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. **Ecossistema**, v.14, p.188-192, 1989.

- ALVES, S.B.; LOPES, J.R.S.; ALVES, L.F.A.; MOINO JR., A. Controle microbiano de artrópodos associados a doenças de plantas. In: MELO, I.S. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: -Embrapa, CNPMA, 1997. 143-170p.
- ALVES, S.B.; RISCO, S.H.; SILVEIRA NETO, S; MACHADO NETO, R. Pathogenicity of nine isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. to *Diatraea saccharalis* (Fabr.). **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, v.97. n. 2, p. 127-129, 1984.
- ANNDURAI, R.S.; MORRISON, M.N. Impact of pollen food on the fecundity and feeding time in two species of thrips (Insecta: Thysanoptera) infesting flowers of Solanaceae. **Current Science**, v.56, n.19, p.1032-1033, 1987.
- BAILEY, S.F. A method employed in rearing thrips. **Journal of Economic Entomology**, v.25, p.1194-1196, 1932.
- BAUTISTA, R.C.; MAU, R.F.L. Preferences and development of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) on plant host of tomato spotted wilt tospovirus in Hawaii. **Environmental Entomology**, v.23, n.6, p.1501-1507, 1994.
- BRODSGAARD, H.F. Effect of photoperiod on the bionomics of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Applied Entomology**, v.117, p.498-507, 1994.
- BRODSGAARD, H.F. "Keep down", a concept of thrips biological control in ornamental pot plants. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.221-224.

- BROWNBIDGE, M. Prospects for mycopathogens in thrips management. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p. 281-295.
- CABANILLAS, E.; BARKER, K.R. Impact of *Paecilomyces lilacinus* inoculum level and application time on the control of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Nematology**, v.21, p.115-120, 1989.
- CARL, K.P. An *Entomophthora* sp. (Entomophthorales: Entomophthoraceae) pathogenic to *Thrips* spp. (Thysan: Thripidae) and its potential as a biological control agent in glasshouses. **Entomophaga**, v.20, n.4, p. 381-388, 1975.
- CASTINEIRAS, A.; PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.; OSBORNE, L. Potential of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as biological control agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). **Florida Entomologist**, v.79, n.3, p.458-461, 1996.
- CHO, J.J.; MITCHELL, W.C.; MAU, R.F.L.; SAKIMURA, K. Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphaed lettuce in Hawaii. **Plant Disease**, v.71, p.505-508, 1987.
- CHYZIK, R.; GLAZER, I.; KLEIN, M. Virulence and efficacy of different entomopathogenic nematode species against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). **Phytoparasitica**, v.24, n.2, p. 103-110, 1996./ Resumo em CAB Abstract, 1996/Sept.1997/.

- DE JAGER, C.M.; BUTÔT, R.P.T.; DE JONG, T.J.; KLINKHAMER, P.G.L.; VAN DER MEIJDEN, E. Population growth and survival of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) on different chrysanthemum cultivars. **Annals of Applied Entomology**, v.115, p.519-525, 1993.
- DOANE, E.N.; PARKER, B.L.; PIVOT, Y. Method for mass rearing even-aged western flower thrips on beans. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.587-593.
- FRANSEN, J.J. Fungi of aphids, thrips and whitefly in the greenhouse environment. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., Adelaide, 1990. **Proceedings**. Adelaide: Society of Invertebrate Pathology, aug. 1990. p.376-380.
- FRIGO, S.M.; AZEVEDO, J.L. Variabilidade natural para crescimento, conidição e sobrevivência à luz ultra-violeta em *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Revista de Agricultura**, v.61, n.2, p.137-147, 1986.
- GAUM, W.G.; GILIOMEE, J.H.; PRINGLE, K.L. Life history and life tables of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), on english cucumbers. **Bulletin of Entomological Research**, v.84, p.219-224, 1994.
- GERIN, C.; HANCE, TH.; VAN IMPE, G. Demographical parameters of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Applied Entomology**, v.118, p.370-377, 1994.
- GERMAN, T.L.; ULLMAN, D.E.; MOYER, J.W. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. **Annual Review of Phytopathology**, v.30, p.315-348, 1992.

- GILLESPIE, D.R.; QUIRING, D.J.M. Competition between *Orius tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) and *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) feeding on *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). **The Canadian Entomologist**, v. 124, p.1123-1128, 1992.
- GREENE, I.D.; PARRELLA, M.P. Two new natural enemies of western flower thrips in California. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.277-279.
- HARA, A.H.; HATA, T.Y.; TENBRINK, V.L.; HU, B.K.S. Postharvest treatments against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* (Pergande)) and melon thrips (*Thrips palmi* Karny) on orchids. **Annals of Applied Biology**, v. 126, p. 403-415, 1995.
- HATA, T.Y.; HARA, A.H.; HU, B.K.S.; KANEKO, R.T.; TENBRINK, V.L. Field sprays and insecticidal dips after harvest for pest management of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) on orchids. **Journal of Economic Entomology**, v.86, n.5, p. 1483-1489, 1993.
- HELYER, N.L.; BROBYN, P.J. Chemical control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). **Annals of Applied Biology**, v. 121, p. 219-231, 1992.
- HELYER, N.L.; BROBYN, P.J.; RICHARDSON, P.N.; EDMONSON, R.N. Control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*, Pergande) pupae in compost. **Annals of Applied Biology**, v. 129, p. 405-412, 1992.
- HENDERSON, C.F.; TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, v.48, p.157-161, 1955.

HIGGINS, C.J. Western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) in greenhouses: Population dynamics, distribution on plants, and associations with predators. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.5, p.189-1903, 1992.

IMMARAJU, J.A.; PAINE, T.D.; BETHKE, J.A.; ROBB, K.L.; NEWMAN, J.P. Western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) resistance to insecticides in Coastal California greenhouses. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.1, p.9-14, 1992.

JACOBSON, R.J. Resources to implement biological control in greenhouses. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.211-219.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v.24, p.453-489, 1986.

KINZER, R.E.; YOUNG, S.; WALTIN, R.R. Rearing and testing tobacco thrips in the laboratory to discover resistance in peanuts. **Journal of Economic Entomology**, v.65, n.3, p.782-785, 1972.

LATHAM, L.J.; JONES, R.A.C. Occurrence of tomato spotted wilt tospovirus in native flora, weeds and horticultural crops. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.48, n.3, p. 359-369, 1997.

LEWIS, T. **Thrips: their biology, ecology and economic importance**. London: Academic Press. 1973. 349p.

- LOOMANS, A.J.M.; MURAI, T.; VAN HUST, J.P.W.F.; VAN LENTEREN, J.C. *Ceranisus memes* (Hymenoptera: Eulophidae) for control of western flower thrips: Biology and behavior. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p. 263-268.
- LOWRY, V.K.; SMITH, J.W.; MITCHEL, F.L. Life-fertility tables for *Frankliniella fusca* (Hinds) and *F. occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) on peanut. **Annals of the Entomological Society of America**, v.85, n.6, p.744-754, 1992.
- MACLEOD, D.M.; TYRRELL, D.; CARL, K.P. *Entomophthora parvispora* sp. nov., a pathogen of *Thrips tabaci*. **Entomophaga**, v.21, n.3, p. 307-312, 1976.
- MANZINI, A.R.C.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; ALVES, L.F.A. Seleção de isolados e estratégia de aplicação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Blattella germanica*. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 6., Piracicaba, 1998. **Resumos**. São Paulo: USP, 1998. p.503.
- MARCHOUX, G.; GÉBRÉ-SELASSIE, K.; VILLEVIELLE, M. Detection of tomato spotted wilt virus and transmission by *Frankliniella occidentalis* in France. **Plant Pathology**, v.40, n.3, p. 347-351, 1991.
- MASÍS, C.E.; AAGESSEN, T.L. Control químico del trips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en el cultivo del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*). **Manejo Integrado de Plagas**, v.26, p. 5-7, 1993.
- MOINO JR., A.; ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. **Journal of Applied Entomology**, v.122, p.301-305, 1998.

- MONTEIRO, R.C. Espécies de tripes (Thysanoptera: Thripidae) associadas a algumas culturas no Brasil. Piracicaba, 1994. 85p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Quieroz”, Universidade de São Paulo.
- MONTSERRAT, M.; CASTANÉ, C.; SANTAMARINA, S. *Neozygites parvispora* (Zigomycotina: Entomophthorales) causing an epizootic in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber in Spain. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.71, p. 165-168, 1998.
- MORITZ, G.; WEIWAD, W. Comparison of the virulence of hyphal bodies and conidia of *Verticillium lecanii* against *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Insecta). In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 20., Firenze, 1996. **Proceedings**. Firenze:Tipografia TAF, 1996. p.691.
- MOUND, L.A.; MARULLO, R.. **The thrips of Central and South America: An introduction** (Insecta: Thysanoptera). Gainesville: Florida Associated Publishers. 1996. 487p.
- MOUND, L.A.; TEULON, D.A.J. Thysanoptera as phytophagous opportunists. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.3-19.
- MURAI, T.; LOOMANS, A.J.M. Host parasite interaction between *Frankliniella intonsa*, western flower thrips and *Ceranissus menes* (Hym: Eulophidae): Development and reproduction. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.269-276.

- MURPHY, B.C.; MORISAWA, T.A.; NEWMAN, J.P.; TJOSVOLD, S.A.; PARRELLA, M.P. Fungal pathogen controls thrips in greenhouse flowers. **California Agriculture**, v.52, n.3, p.32-36, 1998.
- NEVES, P.O.M.J. Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com fungos entomopatogênicos e o inseticida imidacloprid. Piracicaba, 1998. 111p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- NUGALIYADDE, L.; HEINRICHS, E.A. Biology of rice thrips, *Stenchaetothrips biformis* (Bagnall) (Thysanoptera: Thripidae) and a greenhouse rearing technique. **Journal of Economic Entomology**, v.77, n.5, p. 1171-1179, 1984.
- OSBORNE, L.S.; STOREY, G.K.; MCCOY, C.W.; WALTER, J.F. Potential for controlling the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, with the fungus, *Paecilomyces fumosoroseus*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., Adelaide, 1990. **Proceedings**. Adelaide: Society of Invertebrate Pathology, aug. 1990. p.386-390.
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; AZEVEDO, J.L. Variabilidade natural no fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.33, n.3, p.657-672, 1990.
- PALMER, J.M.; MOUND, L.A.; DU HEAUME, G.J. **CIE guide to insects of importance to man - 2. Thysanoptera**. London: CAB, International Institute of Entomology. 1989. 74p.
- PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 137p.

- PARRELLA, M.P. IPM - Approaches and prospects. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.357-365.
- POZZER, L.; RESENDE, R.O.; LIMA, M.I.; KITAJIMA, E.W.; GIORDANO, L.B.; ÁVILA, A.C. Tospovirus: uma visão atualizada. **RAAP**, v.4, p.95-148, 1996.
- ROBB, K.L.; PARRELLA, M.P. IMP of western flower thrips. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.365-370.
- ROBB, K.L.; NEWMAN, J.; VIRZI, J.K.; PARRELLA, M.P. Insecticide resistance in western flower thrips. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.341-346.
- ROBERTS, D.W. Toxins from the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*: isolation of destruxins from submerged cultures. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.14, p.82-88, 1969.
- ROMBACH, M.C.; GILLESPIE, A.T. Entomogenous Hyphomycetes for insect and mite control on greenhouse crops. **Biocontrol News and Information**, v.9, n.1, p.7-18, 1988.
- SAMSON, R.A.; RAMAKERS, P.M.J.; OSWALD, T. *Entomophthora thripidum*, a new fungal pathogen of *Thrips tabaci*. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, p. 1317-1323, 1979.

- SKINNER, M.; PARKER, B.L.; BERGDAHL, D.R. *Verticillium lecani*, isolated from larvae of pear thrips *Teniothrips inconsequens*, in Vermont. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 58, p. 157-163, 1991.
- TAMAI, M.A. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch. Piracicaba, 1997. 86p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- TANIGOSHI, L.K.; NISHIO-WONG, J.Y. Greenhouse rearing of citrus thrips *Scirtothrips citri* for experimental testing. **Journal of Economic Entomology**, v.74, n.2, p.213-214, 1981.
- TEULON, D.A.J. Laboratory technique for rearing western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.3, p. 895-899, 1992.
- TRICHILO, P.J.; LEIGH, T.F. Influence of resource quality on the reproductive fitness of flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Annals of Entomological Society of America**, v.81, n.1, p. 64-70, 1988.
- ULLMAN, D.E.; GERMAN, T.L.; SHERWOOD, J.L.; WESTCOT, D.M. Thrips transmission of Tospovirus: future possibilities for management. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.135-151.
- VACANTE, V.; CACCIOLA, S.O.; PENNISI, A.M. Epizootiological study of *Neozygites parvispora* (Zygomycota: Entomophthoraceae) in a population of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on pepper in Sicily. **Entomophaga**, v.39, n.2, p. 123-130, 1994.

- VAN DE VEIRE, M.; DEGHEELE, D. Comparative laboratory experiment with *Orius insidiosus* and *Orius albidipennis* (Het: Anthocoridae), two candidates for biological control in glasshouses. **Entomophaga**, v.40, n.3/4, p.341-344, 1995.
- VAN DER SCHAAF, D.A.; MALAIS, M.; RAVENSBERG, W.J. The use of *Verticillium lecanii* against whitefly and thrips in glasshouse vegetables in the Netherlands. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., Adelaide, 1990. **Proceedings**. Adelaide: Society of Invertebrate Pathology, aug. 1990. p.391.
- VAN HOUTEN, Y.M.; VAN STRATUM, P. Control of western flower thrips on sweet pepper in winter with *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) and *A. degenerans* Berlese. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.245-248.
- VAN RIJN, P.C.J.; MOLLEMA, C.; STEENHUIS-BROERS, G.M. Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. **Bulletin of Entomological Research**, v.85, p.285-297, 1995.
- VESTERGAARD, S.; GILLESPIE, A.T.; BUTT, T.M.; SCHREITER, G.; EILENBERG, J. Pathogenicity of the Hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. **Biocontrol Science and Technology**, v.5., p.185-192, 1995.

VIEIRA, S.A.; ALVES, S.B.; STIMAC, J.L.; ESTEVAM, R.C. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para o controle de *Periplaneta americana* (L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14.; ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTAS, 5., Piracicaba, 1993. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 1993. p.347.

WILSON, L.J.; BAUER, L.R.; WALTER, G.H. Phytophagous thrips are facultative predators of twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on cotton in Australia. **Bulletin of Entomological Research**, v.86, p. 297-305, 1996.

WILSON, T.H.; COOLEY, T.A. A chalcidoid planidium and an entomophilic nematode associated with western flower thrips. **Annals of Entomological Society of America**, v.65, p. 414-418, 1972.

WRAIGHT, S.P.; CARRUTHERS, R.I.; BRADLEY, C.A.; JARONSKI, S.T.; LACEY, L.A.; WOOD, P.; GALAINI-WRAIGHT, S. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.71, p.217-226, 1998.

YUDIN, L.S.; CHO, J.J.; MITCHEL, W.C. Host range of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) with special reference to *Leucaena glauca*. **Environmental Entomology**, v.15, n.6, p. 1292-1295, 1986.

YUDIN, L.S.; TABASHNIK, B.E.; CHO, J.J.; MITCHEL, W.C. Colonization of weed and lettuce by thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Environmental Entomology**, v.17, n.3, p. 522-526, 1988.

YUDIN, L.S.; TABASHNIK, B.E.; MITCHEL, W.C.; CHO, J.J. Effects of mechanical barriers on distribution of thrips (Thysanoptera: Thripidae) in lettuce. **Environmental Entomology**, v.84, n.1, p.136-139, 1991.