

Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B

Elizabeth Quisberth Ramos¹
Sérgio Batista Alves¹
Clarice G.B. Demétrio²
Silvano Cesar da Costa²

RESUMEN. Se evaluó la actividad patogénica de cepas de *Beauveria bassiana* (25), *Metarhizium anisopliae* (7), *Paecilomyces* spp. (11) y *Verticillium lecanii* (1) en el control de *Bemisia tabaci* biotipo B. Los experimentos fueron realizados en condiciones controladas (25±0,5 °C, 80±5% HR y 12:12 L:D). Se utilizaron hojas de soya infestadas con ninfas de tercer instar, inoculadas con 2 mL de la suspensión (10⁷ conidios/mL), aplicada por medio de una torre de Potter (15 lb pol²). Todas las cepas fueron patogénicas para las ninfas, causando entre 10 y 89% de mortalidad. Sin embargo, las cepas 447 y 969 (*B. bassiana*), 1037, 816 y E9 (*M. anisopliae*), y CB144 (*Paecilomyces* spp.) alcanzaron 57, 59, 61, 89 y 48% de mortalidad, respectivamente. Fue posible concluir que los aislamientos E9, 1037 y 816 de *M. anisopliae* y las cepas 447 y 969 de *B. bassiana* constituyen opciones promisorias para el control microbiano de ninfas de mosca blanca biotipo B.

Palabras clave: *Metarhizium anisopliae*, control microbiano, mosca blanca, *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*.

ABSTRACT. Selection of entomopathogenic fungi to control *Bemisia tabaci* biotype B. Isolates of *Beauveria bassiana* (25), *Metarhizium anisopliae* (7), *Paecilomyces* spp. (11), and *Verticillium lecanii* (1) were evaluated for their pathogenicity against third instar nymphs of *Bemisia tabaci* biotype B. The experiment was conducted under controlled conditions (25±0,5 °C, 80±5% RH and 12:12 L:D). Soybean leaves were treated with 2 mL of conidial suspensions (10⁷ conidia/mL), applied through a Potter Tower (15 lb/pol²). All the isolates were pathogenic to nymphs and caused from 10 to 89% of mortality. The most pathogenic isolates were *B. bassiana* 447 and 969, *M. anisopliae* 1037, 816 and E9, and *Paecilomyces* spp. CB144, causing 57, 59, 61, 68, 89 and 48% of mortality, respectively. Results indicate that *M. anisopliae* isolates E9, 1037 and 816, and *B. bassiana* isolates 447 and 969 are the most promising for the development of bioinsecticides to control silverleaf whitefly nymphs.

Key words: *Metarhizium anisopliae*, microbial control, silverleaf whitefly, *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*.

Introdução

Bemisia tabaci (Genn.) biótipo B é uma praga que encontra-se amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais. Além da alta capacidade reprodutiva, apresenta grande capacidade de dispersão e elevado número de hospedeiros alternativos (Brown *et al.* 1995, Caballero 1996). Essas características, associadas ao desenvolvimento de linhagens resistentes a inseticidas têm favorecido o

aumento acelerado de populações dessa praga em casa-de-vegetação e campo, provocando perdas significativas de produção, tanto pelos danos diretos como indiretos (Byrne & Bellows 1991, Brown & Bird 1992, Brown *et al.* 1995).

A estratégia de utilização de fungos entomopatogênicos num programa de controle microbiano dessa praga envolve, como primeiro

¹ Departamento de Entomologia, Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz"-Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), Piracicaba, **Brasil**. eqramos501@hotmail.com

² Departamento de Estatística, ESALQ-USP, Piracicaba, **Brasil**.

procedimento, a fase de seleção de isolados quanto à sua patogenicidade e virulência. Estudos de seleção com os fungos *Aschersonia aleyrodinis*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, são importantes para viabilizar o uso desses microrganismos no controle do complexo *Bemisia* spp. (Fransen 1990, Landa *et al.* 1994, Vidal *et al.* 1997, Alves *et al.* 1998, Wraight *et al.* 2000, Vicentini *et al.* 2001). Neste estudo verificou-se a patogenicidade de 44 isolados de fungos entomopatogênicos contra ninfas de *B. tabaci* biótipo B.

Material e métodos

Ninfas 3º instar: Ninfas de *B. tabaci* biótipo B foram usadas nos bioensaios originárias da colônia mantida na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), em Piracicaba-SP, Brasil. Folhas de soja (*Glycine max*) foram infestadas naturalmente, com estes insetos e após 15 dias, foram transferidas para placas de Petri (15 x 2 cm). Para cada tratamento, foram feitas cinco repetições onde foram selecionadas ao acaso, 20 ninfas/folha/repetição. As placas, contendo os insetos, foram transferidas para câmara climatizada tipo (Biological Oxygen Demand) BOD ($25 \pm 0,5$ °C, $80 \pm 5\%$ UR e 12 horas de fotofase).

Fungos: Foram utilizados 25 isolados de *Beauveria* sp., 11 de *Paecilomyces* spp., 1 de *V. lecanii* e 7 de *M. anisopliae*, isolados de diferentes espécies de insetos. A repicagem e multiplicação de cada isolado foi feita em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata+dextrose+ágar). Após a repicagem dos isolados, as placas foram transferidas para BOD onde foram mantidas por um período de 10 dias. Foram realizadas avaliações de viabilidade e contagem de conídios em câmara de Neubauer, para cada bioensaio.

A seleção dos isolados promissores foi feita em função da patogenicidade do fungo sendo selecionados aqueles que causaram mortalidade superior a 60%. O protocolo utilizado nos

experimentos foi semelhante, aos adotados por Landa *et al.* (1994), Wraight *et al.* (1998) e Ramos *et al.* (2000). As pulverizações foram realizadas com Torre de Potter, (15 libras/pol²) de pressão, utilizando-se alíquotas de 2 mL (0,2 µL/cm²) da suspensão contendo 10⁷ conídios/mL.

As avaliações foram realizadas até o quinto dia após a inoculação, registrando-se a mortalidade diária de ninfas em cada folha. Para a confirmação da morte das ninfas pelo patógeno, os cadáveres foram lavados em álcool 70%, e transferidos para placas de Petri contendo ágar-água (1,5%) e foram mantidas em BOD durante sete dias (Fig. 1b).

Análises estatística: Os dados obtidos foram analisados usando-se um modelo de regressão binomial (Nelder & Wedderburn 1972) no programa SAS – Statistical Analysis System ($P < 0,05$). O cálculo da correção de mortalidade foi realizado utilizando a fórmula de Abbott (1925).

Resultados e discussão

Durante a realização dos bioensaios, foi verificada grande quantidade de ninfas aderidas na mesma área da folha, dificultando a individualização das mesmas. Desta forma, optou-se pela utilização de pequenos grupos sobre as folhas de soja. Wraight *et al.* (1998), também verificaram este fato na seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de ninfas de *B. tabaci* biótipo B.

Os isolados utilizados nos ensaios de seleção apresentaram entre 95 a 100% de viabilidade, quando avaliados após 18 horas da inoculação em meio BDA. Os resultados de mortalidade das ninfas causados pelos 44 isolados distribuídos e analisados separadamente em oito bioensaios contam nas Tabela 1 a 3. Na Tabela 1 encontram-se os resultados para o ajuste do modelo binomial padrão. Pode-se observar que existem evidências de superdispersão para todos os bioensaios.

Usando-se os gráficos do tipo meio-normal com envelope simulado (Hinde & Demétrio 1997) foi

Tabela 1. “Deviances” residuais do modelo binomial padrão.

	Bioensaios							
	1	2	3	4	5	6	7	8
“Deviances”	89,06	86,67	111,36	143,94	72,12	119,67	70,63	78,55
Graus de liberdade	24	28	44	28	24	28	24	28

possível constatar que o modelo com fator de heterogeneidade ajustou-se bem a todos os ensaios. Com base em contrastes de tratamentos dois a dois foram, então, feitos testes para agrupamentos ($\alpha = 0,05$) e os resultados estão apresentados na Tabela 2. Os grupos formados de tratamentos constam na Tabela 3.

A Tabela 3 apresenta as proporções de mosca-branca mortas observadas e os tratamentos de cada bioensaio. A testemunha dos bioensaios 2 e 3, foram retiradas da análise, pois interferiam no processo de convergência e seu valor observado é nulo.

No primeiro bioensaio os isolados 1248 e 1261 de *B. bassiana* e 1200 de *P. fumosoroseus* causaram entre 14 a 31% mortalidade, foram semelhantes ao padrão 447 (52%) diferindo significativamente da testemunha e por sua vez os isolados 1261 (*B. bassiana*) e 1125 de *P. lilacinus* tiveram comportamento igual a testemunha com mortalidades entre 6 e 14%. No segundo bioensaio, o isolado 1249 (*B. bassiana*) que causou 25% de mortalidade foi semelhante ao 447 (*B. bassiana*) com 56% de mortalidade, sendo mais patogênico aos demais. Os isolados 1195, 1246, 1255, 1250 e 1252 de (*B. bassiana*) causaram mortalidades variáveis de 2 a 12% e não diferiram da testemunha. Dados de mortalidade

média obtidos no terceiro bioensaio, mostraram que houve diferença estatística significativa entre o padrão 447 (*B. bassiana*) que provocou 72% de mortalidade em *B. tabaci* e os isolados 1211, 1219, 1213, 1245, 1210, PL61 (*B. bassiana*), 972 (*V. lecanii*), 1233 (*Beauveria* sp.), 1253 e 1232 (*Paecilomyces* sp.) que causaram mortalidades variáveis entre 1 e 16%. Todos os isolados tiveram comportamento semelhante e não diferiram da testemunha, sendo considerados pouco patogênicos para as ninfas. No quarto experimento a porcentagem média de mortalidade do isolado padrão 447 (*B. bassiana*) foi de 50%, enquanto que os demais isolados 1145 (*P. lilacinus*), 1240, PL63, 1202 e 1208 de (*B. bassiana*) apresentaram o mesmo comportamento observado na testemunha com mortalidades variando entre 12 a 31% (Tabela 3).

No quinto experimento não houve diferença significativa entre os isolados 1037 e E9 de *M. anisopliae* (61 e 89% de mortalidade) e o padrão *B. bassiana* (447). Os isolados 1207 e 1197 de *B. bassiana* causaram mortalidades de 25 e 26% diferindo dos isolados de *M. anisopliae*. Todos os tratamentos diferiram da testemunha. No sexto bioensaio, todos os isolados 969 (*B. bassiana*), 908 (*Beauveria* sp.), 623

Tabela 2. Teste F para agrupamento de tratamentos e estimativa do fator de heterogeneidade.

	Bioensaios						
	1	2	3	4	6	7	8
Entre grupos	14,61 ^z (1)	31,31 ^z (1)	69,62 ^z (1)	6,67 ^z (2)	26,03 ^z (1)	31,45 ^z (2)	21,93 ^z (2)
Desvios	0,16 (4)	0,08 (5)	0,34 (9)	0,22 (4)	0,31 (5)	0,43 (3)	0,58 (4)
Tratamentos	6,75 ^z (5)	9,26 ^z (6)	9,37 ^z (10)	2,89 ^z (6)	4,82 ^z (6)	11,70 ^z (5)	7,77 ^z (6)
$\hat{\sigma}$	3,33 (4)	2,67 (28)	2,32 (44)	4,75 (28)	3,86 (28)	2,62 (24)	2,40 (28)

^zIndica significância ao nível de 5%.

Tabela 3. Valores observados de proporção de mortalidade de ninfas de 3o ínstar de *B. tabaci* biótipo B, cinco dias após a inoculação com fungos entomopatogênicos (25±0,5 °C, 80±5% UR e 12 horas de fotofase).

	Bioensaios															
	1		2		3		4		5		6		7		8	
Test.	0,01	Test.	0,00	Test.	0,00	Test.	0,03	Test.	0,02	Test.	0,02	Test.	0,02	Test.	0,03	
1125	0,06	1195	0,02	1232	0,01	1202	0,12	1207	0,25	PL43	0,36	866	0,34	CB148	0,13	
1261	0,14	1246	0,04	1233	0,04	1240	0,16	1197	0,26	623	0,40	868	0,38	CB130	0,18	
1200	0,25	1255	0,04	1253	0,05	1208	0,23	447	0,59	447	0,42	935	0,44	CB114	0,24	
1248	0,31	1250	0,07	1210	0,08	PL63	0,27	1037	0,61	1104	0,50	816	0,68	CB139	0,36	
447	0,52	1252	0,12	1213	0,12	1145	0,31	E9	0,89	908	0,54	447	0,70	CB144	0,48	
		1249	0,25	1245	0,13	447	0,50			969	0,59			447	0,53	
		447	0,56	972	0,13											
				1219	0,14											
				PL061	0,16											
				1211	0,16											
				447	0,72											

(*P. lilacinus*), 1104 e PL43 (*M. anisopliae*) apresentaram comportamento semelhante ao padrão 447. A mortalidade variou de 36 a 59% entre esses isolados. O fungo *P. lilacinus* causou 40% de mortalidade em ninfas de *B. tabaci* biotipo B. Todos os tratamentos foram diferentes em relação à testemunha. No sétimo bioensaio o isolado 816 de *M. anisopliae* foi semelhante a *B. bassiana* (447), causando 68 e 70% de mortalidade. Verificou-se diferença significativa entre os demais isolados 868 (*Beauveria* sp.), 935 e 866 de *M. anisopliae* e 447 (*B. bassiana*) e 816 (*M. anisopliae*) causaram mortalidades entre 34 e 44% diferindo da testemunha. No oitavo bioensaio, a análise de variância não detectou diferenças estatísticas significativas entre os isolados CB144 (*Paecilomyces* sp.), 447 (*B. bassiana*), CB139 (*Paecilomyces* sp.) e CB114 (*Paecilomyces* sp.) que causaram mortalidades variáveis de 24 a 53%, sendo que todos esses isolados foram mais patogênicos que a testemunha. O mesmo não ocorreu em relação aos isolados CB130, CB148 de *Paecilomyces* os quais não diferiram da testemunha causando 13 e 18% de mortalidade (Tabela 3).

Em geral os dados de porcentagens de mortalidade variou de 2 a 70% para *B. bassiana* sendo o isolado 447 o mais patogênico. Observou-se que as ninfas infectadas por *B. bassiana* apresentaram até 72% de mortalidade, sendo que os demais isolados foram menos eficientes (Tabela 3). A baixa mortalidade causada por esses patógenos podem estar relacionada ao uso de isolados não provenientes de *Bemisia* spp. Porém, é notável a ausência de epizootias naturais em populações da mosca-branca como mencionados por Lacey *et al.* (1996) e Wraight *et al.* (1998). Entretanto, estudos demonstraram o significativo potencial do uso de alguns isolados selecionados a partir desse fungo quando aplicado como micoinseticida contra esse inseto em testes de laboratório, casa-de-vegetação e campo (Fransen 1990, Lacey *et al.* 1996). A menor virulência de alguns isolados de *B. bassiana* observados nos bioensaios também pode estar relacionada com o processo de infecção e colonização do fungo. Foram observados sintomas e sinais típicos de infecção causados por *B. bassiana* nos insetos testados (Fig. 1a). Foi possível observar coloração leitosa no tegumento com o posterior aparecimento de cor rosada ou avermelhada em todo o tegumento das ninfas, causada pela oosporina, pigmento rosa. Wraight *et al.* (1998),

também observaram aparecimento da cor rosada no tegumento das ninfas causados por *B. bassiana*, sendo que esse sintoma foi mais evidente sobre as ninfas de 3º e 4º ínstar de *B. tabaci* biótipo B. Após a morte do inseto (96 horas), observou-se a emergência das hifas através das aberturas naturais (região anal, dorsal e espiráculos), recobrando as ninfas com micélios de cor branco-amarelo ou branco-creme (Fig. 1c).

Para *M. anisopliae* a mortalidade de *B. tabaci* variou de 34 a 90% sendo o isolado E9 o mais patogênico para o inseto. A suscetibilidade das ninfas a isolados *M. anisopliae* foi evidente nos experimentos, sendo essa espécie de fungo promissora para controle de ninfas. Poucos estudos são citados na literatura sobre a ocorrência apizoótica desse patógeno sobre aleirodídeos em campo. O maior valor de porcentagem de mortalidade após cinco dias da inoculação foi de 89%, obtido com o isolado E9 no quinto bioensaio (Tabela 3). A alta virulência do fungo *M. anisopliae* foi confirmada por Herrera (1995) e Lopes (1999) nos testes de seleção sobre ninfas de mosca-branca e tripes (*Frankliniella occidentalis*), respectivamente. Com a seleção dessa espécie de fungo, o controle torna-se interessante uma vez que essas pragas ocorrem simultaneamente atacando diversas culturas de interesse agrícola em casa-de-vegetação e campo. Constatou-se que a partir do terceiro dia após a inoculação obteve-se aproximadamente 30% de mortalidade, sendo o pico da mortalidade ao quinto dia. Porém, seu efeito rápido no controle de altas populações de *Bemisia* sp. num curto período de tempo, apresenta uma característica importante e desejável na estratégia de manejo a ser adotada, para espécies de mosca-branca transmissoras de vírus em algumas culturas, como é o caso do biótipo B, tornando-se necessário o controle imediato da praga.

Após a adesão, germinação, penetração, colonização e reprodução do patógeno na superfície da cutícula das ninfas tratadas com os isolados de *M. anisopliae*, os insetos apresentaram o tegumento flácido e com pigmentação leitosa, provocada provavelmente pelos metabólitos secundários como as destruxinas produzidas por esses fungos. Estes metabólitos diminuem a resposta imunológica das células do hospedeiro, estas características são semelhantes às descritas por Vestergaard *et al.* (1999) em relação a esse patógeno. Após a colonização total das ninfas pelo fungo, os insetos infectados tornaram-se duros e cobertos



Figura 1a. Coloração rosada causada de *B. bassiana* (oosporina) em ninfas de 3º ínstar de *B. tabaci* biótipo B.

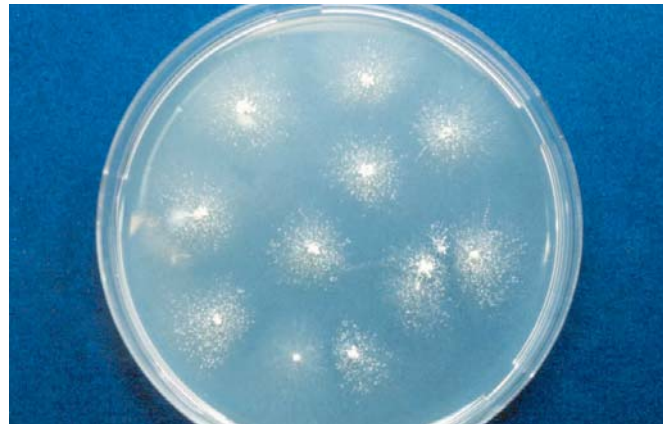


Figura 1b. Confirmação da mortalidade das ninfas em placas de Petri com ágar-água (1,5%).

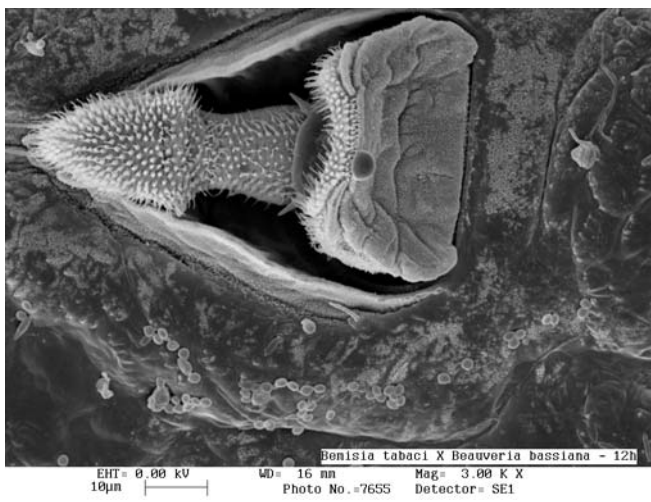


Figura 1c. Adesão de conídios de *B. bassiana* sobre a cutícula, 12 h após a inoculação (MEV) ($25 \pm 0,5$ °C, $95 \pm 5\%$ UR e 12 horas de fotofase).

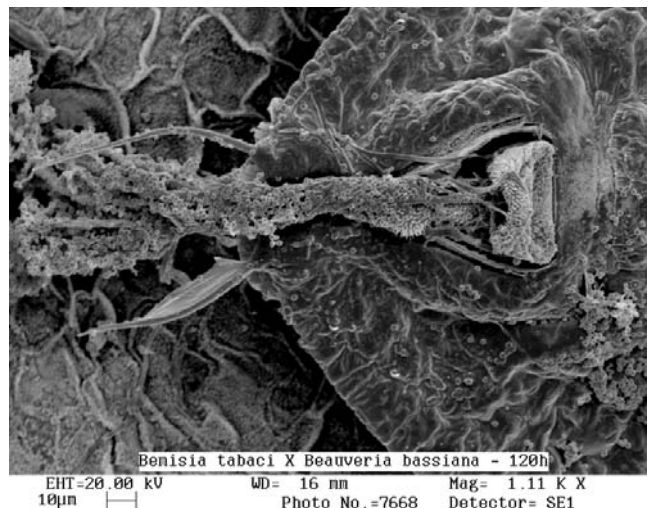


Figura 1d. Saída de *B. bassiana* pelo orifício vasiforme após a colonização na hemocele da ninfa, 120 h (MEV) ($25 \pm 0,5$ °C, $95 \pm 5\%$ UR e 12 horas de fotofase).

por uma camada pulverulenta de conídios.

A patogenicidade variável de *B. bassiana* e *M. anisopliae* descritas anteriormente sobre as ninfas podem ser atribuídas a muitos fatores, como a variabilidade genética das linhagens, produção de enzimas, toxinas, aderência, velocidade de germinação dos conídios e conseqüente penetração na cutícula das ninfas e capacidade de colonização dos isolados (Kleespies & Zimmermann 1994). Também, existem estudos que provaram que o armazenamento de blastósporos de *M. anisopliae* afeta sua viabilidade repercutindo na virulência desse patógeno (James & Jaronski 2000).

Uma característica favorável dos isolados E9 e 1037 (*M. anisopliae*) e 447 (*B. bassiana*) é a habilidade de crescimento e esporulação em meio de cultura

artificial e meio sólido (substrato de arroz pré-cozido) possibilitando sua produção e desenvolvimento comercial. Esses isolados são utilizados como inóculo por empresas privadas no Brasil. Dessa maneira existe a possibilidade que essas espécies de fungos possam ser viáveis no controle de aleirodídeos. Na presente pesquisa, os testes realizados não foram específicos ao modo de ação dos fungos contra as ninfas, porém, foram feitos testes preliminares de Microscopia Eletrônica de Varredura de Pressão Variável (MEV), constatando-se a aderência e esporulação dos conídios de *B. Bassiana* (Figura 1c e 1d) e *M. anisopliae* sobre a superfície da cutícula das ninfas.

Para espécies de *Paecilomyces* a mortalidade de *B. tabaci* variou de 1 a 45% sendo que *P. lilacinus* (isolado 623) causou 40% de mortalidade. O isolados

972 de *V. lecanii*, único testado provocou apenas 13% de mortalidade nas ninfas. Os isolados de *P. fumosoroseus* e *P. lilacinus* foram pouco patogênicos para ninfas, apresentando índices baixos de mortalidade, que não ultrapassaram 48%. Observou-se que as ninfas foram rapidamente infectadas e mortas. Landa *et al.* (1994) mencionaram que esses patógenos infectam todos os estágios ninfais de aleirodídeos. No entanto, Lacey *et al.* (1996) consideraram que ambas espécies de fungos foram mais efetivas para adultos que para ninfas e ovos. Testes utilizando *P. fumosoroseus* e *B. bassiana* mostraram a capacidade desses fungos em infectar ninfas de 3º instar de *B. argentifolii* quando inoculados com 50 a 150 conídios/mm² e incubados a 25% UR, 23±2 °C, 16 horas de fotofase (Wraight *et al.* 1998). Testes de seleção com um número maior de isolados de *P. fumosoroseus*, especialmente *P. farinosus* são importantes, já que são encontrados naturalmente no agroecossistema causando epizootias em populações da mosca-branca (Lacey *et al.* 1996, Vidal *et al.* 1997, Wraight *et al.* 1998).

Foram observados sintomas e sinais de infecção de *Paecilomyces* spp. nas ninfas, as quais caracterizaram-se pela coloração amarelada a laranja, mais intensa por ocasião da conidiogênese total, sobre os cadáveres das mesmas. Wraight *et al.* (1998) observaram os mesmos sintomas e sinais de infecção por esse fungo além de verificar que *P. fumosoroseus* inicialmente emerge pela região anal (orifício vasiforme) do hospedeiro morto e, freqüentemente, o cadáver é coberto com o crescimento rápido das hifas e esporulação dos conídios.

A infecção de *P. fumosoroseus* nos estágios ninfais foi observada 24 horas após a penetração na cutícula. Esta característica foi apresentada pelos isolados CB144 e CB139 de *Paecilomyces* spp., isolados 623, 1145, 1125 de *P. lilacinus*, 1200 de *P. fumosoroseus* e 972 de *V. lecanii*. Estudos de microscopia realizados por Osborne *et al.* (1990) constataram que *Paecilomyces* spp. atacaram a parte dorsal do inseto onde ocorre a formação de tubos germinativos, que penetraram na hemocele em 24 horas. Os micélios emergiram do interior do corpo das ninfas em 48 horas e a esporulação ocorreu em 72 horas.

Assim, os resultados dos bioensaios foram diferentes em relação a patogenicidade contra as ninfas de *B. tabaci* sendo o gênero de *Metarhizium*

mais patogênico seguido de *Beauveria*, *Paecilomyces* e *Verticillium*. Resultados similares sobre o mesmo inseto e com as mesmas espécies de fungos foram também conseguidos por Herrera (1995).

Neste estudo, não foi relacionada patogenicidade com a procedência dos mesmos, sendo que nenhuma das linhagens utilizadas nos testes foram coletadas e isoladas de mosca-branca. De acordo com Vestergaard *et al.* (1995) a patogenicidade independe do hospedeiro ou local de origem do isolado. A baixa porcentagem de mortalidade verificada em cada bioensaio pode estar relacionada a variabilidade genética de cada isolado, sendo que a maioria dos isolados de fungos anteriormente mencionados, foram pouco patogênicos para as ninfas do biótipo B.

As diferenças de patogenicidade dos isolados podem ser devidas a vários fatores sendo que a virulência de um determinado isolado pode estar relacionada com a velocidade de germinação e consequentemente penetração na cutícula do inseto. Alves *et al.* (1996) verificaram que diferentes condições de armazenamento influenciaram a velocidade de germinação dos conídios de *B. bassiana* e consequentemente na virulência do patógeno para *Diatraea saccharalis*. Especula-se que as etapas seguintes após a aderência e germinação do fungo sobre a ninfa, durante a penetração da cutícula o patógeno, poderia ser atingido por condições adversas afetando o crescimento micelial dentro do inseto e a esporulação na superfície do cadáver infectado (Smith & Grula 1981).

O tegumento é importante no processo de infecção do fungo porque consiste em uma barreira física para a penetração do tubo germinativo, complementando-se com as propriedades químicas que provavelmente inibem a germinação do conídio. Por outro lado, possuem também fontes de nutrientes para alguns fungos (Smith & Grula 1981, Alves *et al.* 1986). No caso de ninfas de mosca-branca, a cutícula produz lipídeos e especialmente os de longas cadeias de ésteres de cêra, sendo que essas camadas espessas são uma barreira física para os conídios, prejudicando dessa maneira a adesão, germinação e penetração (Buckner *et al.* 1999). A redução da germinação dos conídios sobre a cutícula das ninfas poderia ser devido a insuficiente quantidade de nutrientes afetando a germinação de *B. bassiana* (James 2001). No 3º instar o inseto ainda é capaz de produzir cêra, além de apresentar maior suscetibilidade desse instar como

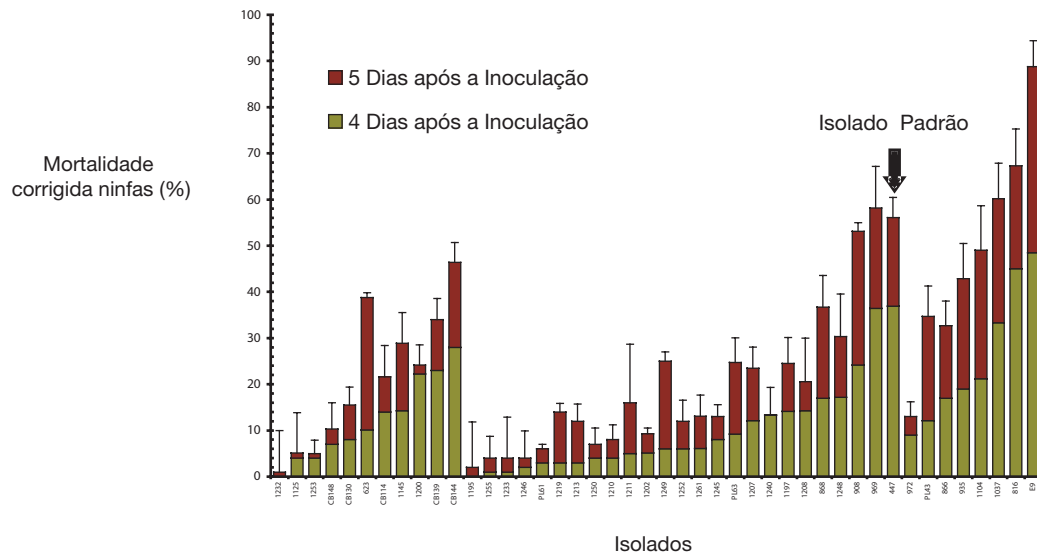
confirmado por Osborne & Landa (1992).

Após repetidos bioensaios usando isolados de fungos selecionados contra as ninfas da mosca-branca deve ser considerada a manutenção da patogenicidade e virulência desses patógenos. Uma forma para se manter essas características seria mediante a passagem pela cutícula e re-isolamento do fungo obtido nos cadáveres infectados. A produção de conídios evidencia a capacidade do patógeno em completar todo o ciclo dentro do hospedeiro. Para trabalhos envolvendo ninfas desse inseto seria interessante que esses testes fossem realizados antes e após os ensaios de patogenicidade para garantir a virulência desses microrganismos (Vidal *et al.* 1997, Brownbridge *et al.* 2001).

Os resultados referentes a mortalidade corrigida e confirmada no quinto dia após a inoculação estão representados graficamente na Fig. 2. A avaliação da porcentagem de mortalidade confirmada baseada na esporulação desses microrganismos sobre as ninfas facilitou as avaliações (Fig. 1b), além de revelar a capacidade patogênica do fungo e mostrar o potencial de conidiogênese, que é um fator determinante na

disseminação do patógeno entre indivíduos da população de mosca-branca como também para outras pragas presentes no mesmo local. A maioria dos isolados (mais de 95%) apresentaram confirmação da infecção causada pelos fungos.

Para se desenvolver um produto microbiano há necessidade de estudar e desenvolver as fases propostas por Alves *et al.* (1998). Assim, estudos aqui elaborados constituem apenas a fase inicial do desenvolvimento de um produto para o controle da mosca-branca com fungos entomopatogênicos. Foram selecionados alguns isolados promissores como primeira medida, possibilitando dessa maneira o estudo de outras fases importantes como caracterização das linhagens, desenvolvimento de uma formulação, testes de eficiência em laboratório, casa-de-vegetação e campo, desenvolvimento de estratégias de aplicação e produção comercial, sendo primordiais para esse fim. Além disso, as espécies de fungos selecionadas também devem atuar sobre outras pragas que ocorrem num mesmo ambiente causando perdas econômicas nas culturas de interesse agrícola.



Literatura citada

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Alves, SB. 1986. Fungos entomopatogênicos. In Alves, SB. ed. Controle microbiano de insetos. São Paulo, BR, FEALQ. p.73-126.
- _____. 1998. Fungos entomopatogênicos. In Alves, SB. ed. Controle microbiano de insetos. 2.ed. São Paulo, BR, FEALQ. p.289-381.
- _____; Pereira, RM; Stimac, JL; Vieira, SA. 1996. Delayed germination of *Beauveria bassiana* conidia after prolonged storage at low, above-freezing temperatures. *Biocontrol Science and Technology* 6: 575-581.
- Brown, JK; Grohlich, DR; Rosell, RC. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annual Review of Entomology* 40: 511-534.
- _____; Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminivirus and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3): 220-225.
- Brownbridge, M; Costa, S; Jaronski, S. 2001. Effects of *in vitro* passage of *Beauveria bassiana* on virulence to *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 77: 280-283.
- Buckner, JS; Hagen, MM; Nelson, DR. 1999. The composition of the cuticular lipids from nymphs and exuviae of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii*. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology* 124: 201-207.
- Byrne, DN; Bellows Junior, TS. 1991. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36: 431-457.
- Caballero, R. 1996. Identificación de moscas blancas. In Hilje, L. ed. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Turrialba, CR, CATIE. p.1-10.
- Fransen, JJ. 1990b. Natural enemies of whiteflies: fungi. In Gerling, D. ed. Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Andover, UK, Intercept. p. 187-210.
- Herrera, FJ. 1995. Evaluación de hongos entomopatogênicos para el control microbiano de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 69 p.
- Hinde, JP; Demétrio, CGB. 1998. Overdispersion: models and estimation. *Computation Statistics and Data Analysis* 27: 151-170.
- James, RR; Jaronski, ST. 2000. Effect of low viability on infectivity of *Beauveria bassiana* conidia toward the silverleaf whitefly. *Journal of Invertebrate Pathology* 76: 227-228.
- Kleespies, RG; Zimmermann, G. 1994. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 4: 309-319.
- Lacey, LA; Fransen, JJ; Carruthers, RI. 1996. Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. In Gerling, D; Mayer, RT. eds. *Bemisia 1995: taxonomy, biology, damage, control and management*. Andover, UK, Intercept. p. 356-456.
- Landa, Z; Osborne, L; Lopez, F; Eyal, J. 1994. A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungus on whitefly. *Biological Control* 4: 341-350.
- Lopes, RB. 1999. Seleção de fungos entomopatogênico e controle de *Frankliniella occidentalis*. (Tysanoptera: Thripidae). Dissertação Mestrado. Piracicaba, BR, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 72 p.
- Nelder, JA; Wedderburn, RWM. 1972. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society* 135: 370-384. (Series A).
- Osborne, LS; Landa, Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomology* 75: 456-471.
- Ramos, EQ. 2000. Susceptibilidad de *Bemisia tabaci* a *Beauveria bassiana* em condiciones de laboratorio. *Manejo Integrado de Plagas* 56: 65-69.
- SAS INSTITUTE. 1999. SAS/STAT: User's guide, version 8. Cary, US. 846 p.
- Smith, RJ; Grula, EA. 1981. Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 37: 222-230.
- Vestergaard, S; Butt, TMS; Bresciani, J; Gillespie, AT; Eilenberg, J. 1999. Light and electron microscopy studies on the infection of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanopter: Thripidae) by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 25-33.
- _____; Gillespie, AT; Butt, TM; Schreiter, G; Eilenberg, J. 1995. Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology* 5: 185-192.
- Vicentini, S; Faria, M; Oliveira De RVM. 2001. Screening of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) Isolates Against Nymphs of *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B (Homoptera:Aleyrodidae) with Description of a Bioassay Method. *Neotropical Entomology* 30(1): 97-103.
- Vidal, C; Lacey, AL; Fargues, J. 1997. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a Description of a Bioassay Method. *Journal of Economic Entomology* 90(3): 765-772.
- Wraight, SP; Carruthers, RI; Jaronski, ST; Bradley, CA; Garza, CJ; Galaini-Wraight, S. 2000. Evaluation of the entomopatogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17: 203-217.
- _____; Carruthers, RI; Bradley, CA; Jaronski, ST; Lacey, LA; Wood, SP; Galaini-Wraight, S. 1998. Patogenicity of the entomopatogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* IN974734, p. 217-226.