



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ÉDER MÁLAGA CARRILHO

CONTROLE MICROBIANO ASSOCIADO A INDUTORES DE
RESISTÊNCIA PARA *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Londrina
2023

ÉDER MÁLAGA CARRILHO

CONTROLE MICROBIANO ASSOCIADO A INDUTORES DE
RESISTÊNCIA PARA *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura

Londrina
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C317c Carrilho, Éder Málaga.
Controle microbiano associado a indutores de resistência para *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) / Éder Málaga Carrilho. - Londrina, 2023.
54 f. : il.

Orientador: Maurício Ursi Ventura.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2023.
Inclui bibliografia.

1. Controle biológico - Tese. 2. Fungos entomopatogênicos - Tese. 3. Bioestimulantes - Tese. 4. *Beauveria bassiana* - Tese. I. Ventura, Maurício Ursi . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

ÉDER MÁLAGA CARRILHO

CONTROLE MICROBIANO ASSOCIADO A INDUTORES DE
RESISTÊNCIA PARA *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura
Universidade Estadual de Londrina

Prof^a. Dr^a. Laila Herta Mihsfeldt
Universidade Estadual Norte do Paraná

Prof. Dr. Rodrigo Yudi Palhaci Marubayashi
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 28 de fevereiro de 2023.

“Nas terras ociosas, embora ricas e férteis, pululam as ervas selvagens e daninhas, e para aproveitá-las cumpre trabalhá-las e semeá-las a fim de que nos sejam úteis.”

- Montaigne, 1996 -

AGRADECIMENTOS

Passando por mais uma etapa da minha vida, chega-se a hora de defender o mestrado, foram dois anos de diversas experiências e de muito aprendizado;

De certa forma assim como é o processo da vida, diversas pessoas vêm e vão, e com isso nos deixa diversas lembranças;

Neste momento em que escrevo esses agradecimentos penso muito em minha mãe, sei que está em um lugar melhor agora, e que você está muito orgulhosa e feliz por estar dando mais um passo da minha vida;

Ao meu melhor amigo e pai neste exato momento somente me vem na cabeça todos os momentos e toda experiência de vida que sempre compartilhamos juntos;

A minha irmã e melhor amiga neste momento me vem nossas brigas por eu comer seu chocolate durante a infância (risos), mas sempre fomos irmãos e sempre estávamos bem um com outro;

A minha namorada e parceira de vida que juntos podemos compartilhar das nossas dificuldades e alegrias entendendo um pouco mais sobre o outro, confiando nossos sonhos a dois;

Ao meu orientador que acredita nas idealizações de trabalho propostos e confia no trabalho realizado, coisas boas vem por aí;

A minha orientadora de TCC que não importa o tempo e a distância sempre me recordo das nossas risadas e lanches no laboratório;

Aos professores que consegui construir um vínculo de amizade;

Aos colegas de trabalho e técnico do laboratório de entomologia;

Agradeço por estarem presentes na conclusão desta etapa.

CARRILHO, ÉDER MÁLAGA. Controle microbiano associado a indutores de resistência para *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE). 2023. 64 pg. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, 2023.

RESUMO

Diversos artrópodes pragas podem diminuir a produtividade da cultura do citros seja através de seus danos ou pela transmissão de doenças. *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: LIVIIDAE) é o principal inseto praga atualmente, visto que é transmissor da doença do ‘greening’ ou também conhecida por Huanglongbing (HLB). Visto que o manejo deste inseto é feito através do controle químico, existe uma preocupação com relação aos efeitos deste com relação ao meio ambiente e para o ser humano, assim, o controle biológico com uso de fungos entomopatogênicos e a indução de resistência de plantas são estratégias potenciais no manejo integrado de pragas, visto que, podem apresentar efeitos sobre insetos de hábito sugador. O trabalho teve como objetivo verificar a mortalidade de *D. citri* quando expostas a inseticidas microbianos, associados ou não, a indutores de resistência. Foram realizados quatro experimentos diferentes seguindo delineamento inteiramente casualizado. Três fungos entomopatogênicos e dois indutores de resistência foram utilizados para este experimento. O primeiro estudo foi conduzido em casa de vegetação de vidro. Devido à alta temperatura e baixa umidade da casa de vegetação apenas os tratamentos *Isaria fumosorosea* e *I. fumosorosea* + dióxido de Si + Ca biogênico (quitosana) apresentaram um controle de 20,0% e 43,3% respectivamente, os demais tratamentos não apresentaram um controle efetivo dos insetos. O segundo estudo por sua vez foi conduzido em casa de vegetação modelo Van Der Hoeven, neste estudo pode-se observar que os tratamentos com *Beauveria bassiana*; *B. bassiana* + dióxido de Si + Ca biogênico (quitosana) e *I. fumosorosea* apresentaram mortalidade de 63,3%; 56,7% e 16,7% respectivamente. O terceiro e quarto estudo foram conduzidos em mesma condição que o segundo, entretanto a solução aplicada ocorreu em dois sentidos diferentes. No terceiro estudo pode se observar o mesmo comportamento do segundo estudo, onde *B. bassiana* + dióxido de Si + Ca biogênico (quitosana); *B. bassiana* e *I. fumosorosea* apresentaram uma eficiência de controle de 45,1%; 43,7% e 39,4% respectivamente. No quarto experimento *B. bassiana* + dióxido de Si + Ca biogênico (quitosana); *B. bassiana* + Ca biogênico (quitosana) + Silwet; *B. bassiana* e *B. bassiana* + Silwet apresentaram uma eficiência de controle de 79,1%; 68,7%; 70,1% e 61,2% respectivamente. De uma forma geral os tratamentos com *B. bassiana* causou mortalidade acima da testemunha nos estudos conduzidos e a associação de *B. bassiana* + dióxido de Si + Ca biogênico (quitosana) pode incrementar a eficiência do fungo, na mortalidade do psílideo.

Palavras-chave: Controle biológico; Fungos entomopatogênicos, Bioestimulantes, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Cordyceps fumosorosea*.

CARRILHO, ÉDER MÁLAGA. Microbial control associated with resistance inducers for *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE). 2023. 64 pg. Master's dissertation presented to the Graduate Program in Agronomy at the State University of Londrina – UEL, 2023.

ABSTRACT

Several arthropod pests can reduce the productivity of citrus crops either through their damage or through the transmission of diseases. *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: LIVIIDAE) is the main insect pest currently as it transmits the 'greening' disease or also known as Huanglongbing (HLB). Since the management of this insect is mostly done by chemical control, there is a concern regarding the effects of these products on the environment and on humans, thus, the induction of plant resistance is a potential strategy in the integrated management of seen pests that may have effects on sucking insects. The objective of this work was to verify the mortality of *D. citri* when exposed to microbe insecticides associated, or not, with resistance inducers. Four different experiments were carried out following a completely randomized design. Three entomopathogenic fungi and two resistance inducers were used for this experiment. The first study was treated in a glass greenhouse, due to the high temperature and low humidity of the greenhouse only the treatments *Isaria fumosorosea* and *I. fumosorosea* + Si absorption + biogenic Ca (chitosan) adopted a control of 20.0% and 43.3% respectively, the other treatments did not provide effective insect control. The second study, in turn, was controlled in a greenhouse model Van Der Hoeven, in this study it can already be observed that the treatments with *Beauveria bassiana*; *B. bassiana* + Si dioxide + biogenic Ca (chitosan) and *I. fumosorosea* compatible with a mortality rate of 63.3%; 56.7% and 16.7% respectively. The third and fourth study were treated in the same condition as the second, however applied in two different ways. In the third study, the same behavior as in the second study was observed, where *B. bassiana* + Si dioxide + biogenic Ca (chitosan); *B. bassiana* and *I. fumosorosea* showed a control efficiency of 45.1%; 43.7% and 39.4% respectively. In the fourth experiment *B. bassiana* + organic Si + biogenic Ca (chitosan); *B. bassiana* + Biogenic Ca (chitosan) + Silwet; *B. bassiana* and *B. bassiana* + Silwet showed a control efficiency of 79.1%; 68.7%; 70.1% and 61.2% respectively. In general, treatments with *B. bassiana* cause higher mortality than the control in controlled studies and the association of *B. bassiana* + Si dioxide + biogenic Ca (chitosan) can increase the efficiency of the fungus in psyllid mortality.

Keywords: Biological control; Entomopathogenic fungi, Biostimulants, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea*, *Cordyceps fumosorosea*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 PLANTAS DE MURTA (<i>MURRAYA PANICULATA</i>) COM UMA PLANTA POR VASO. LONDRINA, 2022.	27
FIGURA 2 DA ESQUERDA PARA DIREITA, VASO COM PLANTA DE MURTA COM PAPEL FILTRO DE COR BRANCA; GAIOLAS FEITAS COM HASTES DE AÇO; E GAIOLA PRONTA COM VOIL. LONDRINA, 2023.	28
FIGURA 3 CALDAS PREPARADAS PARA O EXPERIMENTO; TESTEMUNHA (T1) E TRATAMENTO QUÍMICO (T2) (FIGURA 3.A); TRATAMENTOS TRÊS, QUATRO E CINCO (REFERENTES AOS PRODUTOS BIOLÓGICOS PURO (FIGURA 3.B); TRATAMENTOS SEIS, SETE E OITO (REFERENTE AOS PRODUTOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS AOS INDUTORES DE RESISTÊNCIA) (FIGURA 3.C); TRATAMENTOS NOVE E DOZE (REFERENTE AOS PRODUTOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS AO ADJUVANTE SILICONADO) E TRATAMENTOS DEZ E ONZE (REFERENTE AOS PRODUTOS BIOLÓGICOS ADICIONADOS DE QUITOSANA E ADJUVANTE SILICONADO) (FIGURA 3.D). LONDRINA, 2022.	29
FIGURA 4 EFICIÊNCIA DE CONTROLE DE <i>D. CITRI</i> POR TEMPO NOS DIFERENTES EXPERIMENTOS. LONDRINA, 2023.	41
FIGURA 5 VERIFICAÇÃO DA VIABILIDADE DO PRODUTO OCTANE ATRAVÉS DO TESTE DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS EM LÂMINA DE VIDRO CONTENDO MEIO DE CULTURA BDA, AVALIADOS APÓS 24 E 48 HORAS. LONDRINA, 2023.	42
FIGURA 6 VERIFICAÇÃO DA VIABILIDADE DO PRODUTO METARRIL E BOVERIL ATRAVÉS DO TESTE DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS EM LÂMINA DE VIDRO CONTENDO MEIO DE CULTURA BDA, AVALIADOS APÓS 24 E 48 HORAS. LONDRINA, 2023.	43

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE DOS AMBIENTES DE ESTUDO (CASA DE VEGETAÇÃO) E RESULTADOS COM RELAÇÃO A EFICIÊNCIA DE CONTROLE POR TEMPO REPRESENTADOS EM ÁREA ABAIXO DA CURVA (AAC) DOS EXPERIMENTOS. LONDRINA, 2023..40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 DESCRIÇÃO PRODUTOS UTILIZADOS NO TRABALHO, BEM COMO SEUS INGREDIENTES ATIVOS E DOSES POR EXPERIMENTO. LONDRINA, 2023.	28
TABELA 2 DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS APLICADOS SOBRE PLANTAS DE MURTA PARA AVALIAÇÃO DE MORTALIDADE DE ADULTOS DE DIAPHORINA CITRI. LONDRINA-PR, 2023.....	31
TABELA 3 DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS APLICADOS SOBRE PLANTAS DE MURTA PARA AVALIAÇÃO DE MORTALIDADE DE ADULTOS DE DIAPHORINA CITRI. LONDRINA-PR, 2022.....	31
TABELA 4 DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS APLICADOS SOBRE PLANTAS DE MURTA PARA AVALIAÇÃO DE MORTALIDADE DE ADULTOS DE DIAPHORINA CITRI. LONDRINA-PR, 2022.....	32
TABELA 5 DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS APLICADOS SOBRE PLANTAS DE MURTA PARA AVALIAÇÃO DE MORTALIDADE DE ADULTOS DE DIAPHORINA CITRI. LONDRINA-PR, 2022.....	33
TABELA 6 PRODUTOS UTILIZADOS PARA TESTE DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS. LONDRINA, 2023.	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Cultura do citros.....	14
2.1.1 Origem.....	14
2.1.2 Características dos citros	14
2.1.3 Importância econômica e destino da produção	14
2.1.4 Importância nutricional	15
2.1.5 Principais artrópodes pragas dos citros	15
2.1.6 Psílideo (<i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)).....	16
2.1.6.1 Origem e Distribuição	16
2.1.6.2 Bioecologia.....	16
2.1.6.3 Importância econômica.....	18
2.1.6.4 Métodos de controle	19
2.1.6.4.1 Controle químico	20
2.1.6.4.2 Controle biológico	20
2.1.6.4.2.1 Fungos entomopatogênicos	21
2.1.6.3.2.1.1 <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill. (1835).....	22
2.1.6.3.2.1.2 <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. 1879	22
2.1.6.3.2.1.3 <i>Isaria fumosorosea</i> Wize, 1904.....	24
2.3 Indutores de resistência.....	24
2.3.1 Silício	25
2.3.2 Quitosana.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Local do experimento.....	27
3.2 Aquisição dos insetos e plantas	27
3.3 Tratamentos	27
3.4 Bioensaios	28
3.5 Preparo da calda	29
3.6 Avaliação de mortalidade dos insetos	30
3.7 Experimento 1	30
3.8 Experimento 2	31
3.9 Experimento 3	32
3.10 Experimento 4	32

3.11 Teste de germinação dos fungos entomopatogênicos	33
3.12 Análises estatísticas.....	34
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	35
5 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

Diaphorina citri Kuwayama, 1908 (Hemiptera: LIVIIDAE) popularmente conhecida como psílideo dos citros é o inseto de maior importância em todo mundo para produção de citros, visto que este pode transmitir uma doença denominada Huanglongbing (HLB), ou também conhecida como ‘greening’ dos citros (PELZ-STELINSKI, 2020).

O controle do psílideo é feito através do controle químico com inseticidas registrados para cultura de acordo com a ProteCitrus (Produtos para Proteção da Citricultura) (MIRANDA, 2022), ou através da utilização do controle biológico por insetos parasitoides (SULE et al., 2014), ou por fungos entomopatogênicos (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020).

A patogenicidade de alguns fungos para *D. citri* já foi descrita (CONCESCHI et al., 2016). Atualmente no mercado nacional três são os fungos entomopatogênicos utilizados para controle, sendo estes, *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea* (MIRANDA, 2022), sendo somente o último registrado.

Mesmo com outras alternativas de controle para *D. citri*, o controle químico é o mais utilizado. O uso excessivo de produtos químicos sintéticos pode acarretar desequilíbrios ambientais e afetar a saúde do ser humano (KUMARASWAMY et al., 2018). Novas estratégias vêm sendo estudadas para controle dos insetos pragas, sendo uma destas através da utilização de indutores de resistência (DALASTRA et al., 2010).

A indução de resistência de plantas é uma estratégia potencial no manejo integrado de pragas, este processo envolve a ativação de mecanismos latentes existentes nas plantas em resposta a exposição de agentes bióticos e abióticos (MONTES, MONTES, RAGA, 2015).

Dois indutores de resistência vêm sendo estudados para sua utilização contra insetos praga, sendo estes o silício e a quitosana. De uma maneira geral sabe-se que o silício atua na composição estrutural na planta dificultando o processo de alimentação dos insetos; bem como induz a planta a produzir enzimas e compostos voláteis capazes de atrair inimigos naturais e combater insetos herbívoros (REYNOLDS et al., 2009). Enquanto a quitosana demonstra um efeito sinérgico na melhoria da ação de microrganismos e agentes de controle biológico (LIMA, BONILLA, LUCENA, 2022).

Portanto o objetivo do trabalho foi verificar a mortalidade de *D. citri* quando expostas a inseticidas microbianos associados, ou não, a indutores de resistência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do citros

2.1.1 Origem

As plantas do gênero *Citrus* tem como centro de origem as regiões subtropicais e tropicais do sul e sudeste da Ásia, incluindo algumas áreas da Austrália e África (MATTOS JUNIOR et al., 2005). O primeiro registro escrito sobre citros é relatado cerca de 2000 a.C. na China (SIQUEIRA E SALOMÃO, 2017). Segundo historiadores as plantas de citros foram levadas a Europa na Época das cruzadas, e chegaram no Brasil por volta dos anos 1500 a 1600 através dos portugueses (DONADIO, MOURÃO FILHO, MOREIRA, 2005).

2.1.2 Características dos citros

O termo citros compreende um grande grupo de plantas da família das Rutáceas (Rutaceae), do gênero *Citrus* e outros gêneros afins. Os frutos de citros mais produzidos são as laranjas (*Citrus sinensis*), tangerinas (*Citrus reticulata* e *Citrus deliciosa*), limas (*Citrus latifolia*), limões (*Citrus limon*), pomelos (*Citrus paradisi*), laranja azeda (*Citrus aurantium*), toranjas (*Citrus grandis*) e cidras (*Citrus medica*), sendo cultivado em quase 150 países, localizados em regiões tropicais e subtropicais do planeta (QUEIROZ VOLTAN, BLUMER, 2005; SIQUEIRA E SALOMÃO, 2017).

O desenvolvimento da planta de citros pode ser dividido em três fases sendo estas propagação, formação da planta e produção, sendo estas dependentes de fatores como qualidade do cultivar da copa e do porta enxerto, clima, tipo de solo, tratos culturais, incidência de doenças e pragas (SIQUEIRA E SALOMÃO, 2017).

As árvores de citros geralmente apresentam porte médio e atingem em média quatro metros de altura, a copa é densa e geralmente de formato arredondado. Suas folhas apresentam distribuição em espiral em torno do caule, sua coloração varia quando novas apresentando cor verde-clara a verde escura quando amadurecem. Com relação as suas flores estas são hermafroditas, possuem de três a cinco sépalas de coloração verde, de três a cinco pétalas de cor branca ou púrpura geralmente em número cinco. Os frutos por sua vez são classificados como hesperídios, um tipo especial de baga formada pelo epicarpo, mesocarpo e endocarpo, sendo a casca dos frutos formadas pelo exocarpo e mesocarpo (QUEIROZ VOLTAN, BLUMER, 2005; SIQUEIRA E SALOMÃO, 2017).

2.1.3 Importância econômica e destino da produção

Em quesito de produção o Brasil se encontra como maior produtor de citros seguido da China e Índia, sendo a laranja a principal fruta cítrica cultivada no mundo (FATIMA VIDAL, 2021). Na safra de 2021/2022 o Brasil produziu cerca de 262,97 milhões de caixas

(40.8kg) de laranja, e estima-se que para o ano de 2022/2023 o volume seja 20,53% maior do que a safra anterior sendo produzidas 316,95 milhões de caixas (FUNDECITRUS, 2022). Segundo dados da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura (2021) os três maiores estados produtores de laranja do Brasil são São Paulo, Minas Gerais e Paraná, detendo 77.1%; 6.0% e 3.9% da produção respectivamente.

A produção de laranja no Brasil tem dois grandes destinos, sendo grande parte destinada ao processamento para produção de suco não concentrado (*Not From Concentrate – NFC*) também conhecido como integral, e suco concentrado congelado (*Frozen Concentrated Orange Juice – FCOJ*) (FATIMA VIDAL, 2021), outra modalidade de suco é o néctar, este necessita de uma participação de suco de laranja acima de 30% e açúcar em sua composição (ANDRADE et al., 2018). A produção que não segue para indústria é direcionada para feiras livres e CEASAS, e os frutos de melhor qualidade seguem para as grandes redes de supermercados e sacolões (AZEVEDO, 2003). Segundo dados da Fundecitrus (2022) os principais países consumidores de suco de laranja são alguns países da Europa, os Estados Unidos, China e Japão. Nas últimas 18 safras as exportações de suco tipo NFC aumentou 296%, já para o suco tipo FCOJ teve uma queda de 46% neste mesmo período, e o consumo de fruta *in natura*, embora represente um pequeno percentual de todo volume processado (3 a 5%), também aumentou.

2.1.4 Importância nutricional

O principal produto da laranja é o seu suco, este é um alimento rico em carboidrato e açúcares, apresentando um alto teor de vitamina C. Este apresenta diversos benefícios para saúde como por exemplo a prevenção de inflamações e controle de peso (RIBEIRO, DOURADO E CESAR, 2017); hidratação (KELLY et al, 2020); controle da glicemia (KERIMI et al, 2019); prevenção de doenças vasculares (ZHENG et al, 2017); traz benefícios para o intestino (FIDÉLIX et al, 2020) e para o cérebro (LAMPART et al, 2016).

Os subprodutos da laranja como exemplo farelo, óleos essenciais, D-limoneno e líquidos aromáticos, também podem ser reaproveitados, sendo possíveis de serem utilizados por indústrias alimentícias, químicas, farmacêuticas, incluindo para produção de fertilizantes orgânicos (CORREIA GUERRERO et al., 1995).

2.1.5 Principais artrópodes pragas dos citros

Dentro do cultivo do citros diversos são os fatores que podem influenciar na qualidade do produto final, sendo estes característicos da variedade que está sendo cultivada, como exemplo temos a qualidade do porta enxerto utilizado, o clima, o solo, adubação, os tratamentos culturais, o complexo de doenças e o complexo de pragas (SIQUEIRA E SALOMÃO, 2017).

Dentre estes citados será dada uma maior atenção as pragas. A cultura dos citros possui mais de 50 espécies de artrópodes-pragas, das quais pelo menos 15 são consideradas chave e transmissoras de doença (NAVA, 2012). Dentre estas 15 temos o ácaro da Leprose dos citros (*Brevipalpus phoenicis* – Tenuipalpidae), cigarrinhas da subfamília Cicadellinae, Pulgão Preto (*Toxoptera citricidus*) e o Psíldeo (*Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: LIVIIDAE)) (NUNES COSMO, GALERIANI, 2020).

2.1.6 Psíldeo (*Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: LIVIIDAE))

2.1.6.1 Origem e Distribuição

O gênero *Diaphorina* (Hemiptera: Psyllidae) abrange cerca de 74 espécies descritas, além da *Diaphorina citri* existem mais duas espécies que podem se alimentar e reproduzir em plantas de citros sendo estas *D. communis* e *D. auberti* (HALL, 2008).

A origem geográfica de *D. citri* é considerada por alguns como sendo o sul da Ásia, provavelmente a Índia. Mead (1977) listou o Extremo Oriente como a origem geográfica do psíldeo. O psíldeo dos citros asiáticos é encontrado em toda a Ásia, Península da Arábia Saudita e em algumas ilhas do Oceano Índico. Conhecido por ocorrer na China, Índia, Mianmar, Taiwan, Ilhas Filipinas, Malásia, Indonésia, Sri Lanka, Paquistão, Tailândia, Nepal, Hong Kong, Ilhas Ryukyu, Afeganistão, Arábia Saudita (MEAD, 1977; HALBERT E MANJUNATH 2004).

Durante a década de 1990, *D. citri* invadiu as Índias Ocidentais (Guadaloupe), Ilha Abaco, Ilha Grand Bahama e Ilhas Cayman (HALBERT E NÚÑEZ, 2004), e foi encontrado na Flórida em 1998 (TSAI E LIU, 2000). Durante 2001, o psíldeo foi encontrado na República Dominicana, Cuba (HALBERT E NÚÑEZ, 2004), Porto Rico (PLUKE et al., 2008) e Texas (FRENCH et al., 2001). O psíldeo já foi relatado também nas Américas, incluindo México, Venezuela, Argentina (HALBERT E NÚÑEZ, 2004). O psíldeo é conhecido na América do Sul mais especificamente no Brasil desde a década de 1940 (COSTA LIMA, 1942) presente nos Estados de São Paulo e Paraná. Atualmente segundo dados da Secretaria da Organização Europeia e Mediterrânea de Proteção de Plantas (EPPO, 2022) o psíldeo está presente em 69 países ao redor do planeta terra, no Brasil este inseto está presente nos estados do Amazonas, Bahia, Ceara, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo.

2.1.6.2 Bioecologia

Os psíldeos adultos são pequenos (2,7 a 3,3 mm de comprimento) com asas marrons apresentando algumas manchas. Os adultos são insetos ativos, saltadores/voadores e podem facilmente voar curtas distâncias quando perturbados. Estes podem ser encontrados

descansando ou se alimentando de folhas com a cabeça na superfície da folha e o corpo em um ângulo de 45° em relação à superfície da folha. Trata-se de um inseto sugador e, portanto, insere suas peças bucais no tecido vegetal para se alimentar (HALL, 2008). Tanto a oviposição quanto o desenvolvimento de *D. citri* ocorrem em tecidos jovens e tenros (HALL E ALBRIGO, 2007). Seu ciclo de vida inclui um estágio de ovo e cinco instares de ninfa.

Os ovos de psílideo variam de uma coloração amarelo claro quando ovipositados recentemente, a um amarelo alaranjado com duas manchas vermelhas (olhos) na maturidade, estes são ovipositados em tecidos vegetais recém desenvolvidos nas dobras foliares, pecíolos, brotos axilares, superfícies superiores e inferiores de folhas novas e em caules tenros (TSAI E LIU, 2000). Apresentando um tamanho médio de 0,31mm de comprimento por 0,14mm de diâmetro, seus ovos são pedicelados sustentados por uma haste com base cônica (HUSAIN E NATH, 1927). Em um único broto pode conter até 777 ovos, podendo estar de forma individual ou em grupos (HALL et al, 2008).

Com relação aos seu estágios ninfais, os primeiros instares apresentam uma baixa mobilidade (são sedentários) e se movem apenas quando presentes em superpopulação ou quando perturbados (TSAI E LIU, 2000).

De forma mais específica ninfas de primeiro instar apresentam 0.3mm de comprimento por 0.17mm de largura, com corpo rosa claro e olhos vermelhos compostos. Já o segundo instar tem 0.45mm de comprimento e 0.25mm de largura com almofadas alares que são visíveis no dorso do tórax. Seu terceiro instar tem em média 0.74mm de comprimento e 0.43mm de largura, suas almofadas alares são bem desenvolvidas e inicia-se a diferenciação dos segmentos antenais apresentando uma única cerda em cada antena (TSAI E LIU, 2000), diferentemente do quarto instar que é semelhante ao terceiro, porém as antenas apresentam duas cerdas e o quinto apresenta três cerdas. Este estágio de desenvolvimento apresenta coloração do abdômen variando de um verde azulado a um laranja pálido (TSAI E LIU, 2000).

O psílideo do citrus é uma espécie multivoltina, portanto apresenta várias gerações em um único ano, sendo estas dependentes de fatores ambientais como no caso de temperatura, umidade, chuva e luz do sol (BEATTIE, 2020), estas também são dependentes de um fator intrínseco ao psílideo que é disponibilidade para oviposição (HALL, 2008), 16 gerações do psílideo já se foram observadas em um ano (ATWAL et al., 1968).

Para completar seu desenvolvimento os insetos apresentam um hospedeiro específico (principal), no caso do psílideo não existe evidencia que as espécies do gênero *Citrus* sejam o hospedeiro original, mas sim espécies do gênero *Murraya* (BEATTIE, 2020). Registros

evidenciam que o hospedeiro original de *D. citri* é *Bergera koenigii* (*Murraya koenigii*), comumente chamada de Curry Indiano (JOSEPH, 2008).

Terminologias foram determinadas de acordo com as plantas em que psílídeos foram encontrados sendo estas; planta hospedeira (uma planta na qual uma espécie completa seu ciclo de vida imaturo a adulto); planta de hibernação ou abrigo (uma planta em quais adultos hibernam, e em que eles podem se alimentar); planta alimentícia (uma planta na qual os adultos se alimentam, mas não procriam e não passam um período de tempo longo), e planta casual (uma planta na qual os adultos pousam ativa ou passivamente, e na qual os adultos podem sondar a planta, mas não se alimentam) (BURCKHARDT et al., 2014).

O psílídeo está presente em genótipos de Rutaceae dentro da tribo Aurantieae, e está presente algumas plantas dos gêneros *Aegle*, *Aeglopsis*, *Afraegele*, *Atalantia*, *Balsamocitrus*, *Citropsis*, *Citrus*, *Limonia*, *Merrillia*, *Murraya*, *Naringi*, *Pamburus*, *Swinglea*, *Triphasia*; o mesmo autor ainda apresenta um resumo dos registros relacionados a *Diaphorina citri* em espécies de Rutaceae dentro da tribo Clauseneae, neste está presente plantas do gênero *Bergera*, *Clausena*, *Glycosmis*, *Micromelum*, *Amyris*, *Balfourodendron*, *Casimiroa*, *Choisya*, *Esenbeckia*, *Helietta*, *Melicope*, *Ptelea*, *Ravenia*, *Tetradium*, *Toddalia*, *Vepris* e *Zanthoxylum* (BEATTIE, 2020).

2.1.6.3 Importância econômica

Os hemípteros vêm apresentando grande importância para agricultura com o passar do tempo. Este grupo de insetos são uma grande ameaça para agricultura bem como para segurança alimentar visto que alguns apresentam a capacidade de transmitir patógenos para as plantas. Neste contexto podemos citar o grupo de bactérias do gênero *Liberibacter* transmitidas através dos psílídeos. Mais especificamente falando este apresenta capacidade de transmitir a doença denominada de Huanglongbing (HLB), ou também conhecida como ‘greening’ dos citros, sendo a mais importante em todo mundo para produção de citros (PELZ-STELINSKI, 2020).

Esta doença foi encontrada na Ásia há mais de 100 anos, e em 2004 foi identificado no Brasil, nas regiões Centro e Leste do estado de São Paulo. Atualmente está presente em todas as regiões citrícolas paulistas e pomares de Minas Gerais e Paraná, além de estar presente em outros países da América do Sul como Argentina e Paraguai, na América Central e na América do Norte (FUNDECITRUS, 2022).

A transmissão da doença ocorre através da alimentação do inseto em uma planta hospedeira contaminada. De forma mais específica após a ingestão do patógeno, este passa pelo intestino chegando a hemolinfa onde se replica e dissemina para todo inseto. Uma

vez que o patógeno atinge a glândula salivar, este inseto agora é considerado vetor e pode transmitir o patógeno para plantas suscetíveis a partir de sua saliva (PELZ-STELINSKI, 2020).

A doença do HLB tem três supostos agentes causais sendo estes, “*Candidatus*” *Liberibacter asiaticus* (CLas), presentes na Ásia, América do Norte e do Sul, Oceania e Península Arábica (HAAPALAINEN, 2014); “*Candidatus*” *Liberibacter americanus* (CLam), encontrado na América do Sul (TEXEIRA et al., 2008); e “*Candidatus*” *Liberibacter africanus* (CLaf) encontrado na África e na Península Arábica (PIETERSEN et al., 2010); estas três são consideradas alfa-proteobactérias gram Gram-negativas limitadas pelo floema e o termo “*Candidatus*”, refere-se que o gênero não foi cultivado.

A incidência de “*greening*” no Brasil, na região do cinturão citrícola, São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro, subiu de 22.37%, em 2021, para 24.42%, em 2022, um aumento de 9.16%. Este crescimento está relacionado a um conjunto de fatores, sendo estes, o clima desfavorável, alta densidade de laranjeiras (o que facilita a dispersão do inseto vetor entre os pomares) e tratos culturais inadequados nos pomares (FUNDECITRUS, 2022).

O sintoma inicial de HLB em citros é o amarelecimento das folhas em um galho individual ou em uma parte da copa da árvore, este apresenta um padrão assimétrico, sendo vistos em um lado somente da folha, ou seja, um lado aparece manchas verdes e no outro manchas amareladas, diferentemente de manchas associadas a deficiência de nutrientes onde estas apresentam um padrão simétrico (GRAFTON CARDWELL; DAUGHERTY, 2018).

Conforme a doença avança na planta os frutos apresentam um tamanho reduzido, geralmente apresentam coloração verde (por isso chamado de “*greening*” dos citros), apresentam aspecto deformado e seu suco fica com sabor amargo, quando não, os frutos podem ser abortados. Em estágio crônico da doença as plantas apresentam uma desfolha severa, e as folhas que restam ficam pequenas e apontadas para cima, quando não ocorre a morte dos galhos, e consecutivamente morte da planta. Em plantas novas o comprometimento total da planta pode levar de um a dois anos, em plantas mais velhas este pode levar de três a cinco anos (GRAFTON CARDWELL; DAUGHERTY, 2018).

2.1.6.4 Métodos de controle

Para todo e qualquer método de controle ser efetivo é necessário se realizar o monitoramento da praga antes de tomar qualquer decisão. Sabe-se que *D. citri* está presente o ano todo nos pomares, com pico populacional entre a primavera e o verão. Para o monitoramento deste inseto recomenda-se o uso de armadilhas adesivas amarelas para averiguar a entrada e movimentação do inseto no pomar. Estas são colocadas na periferia das propriedades e dos talhões, sendo instaladas a cada 100 – 250 metros, sempre posicionadas no terço

superior das plantas, nas extremidades dos ramos e voltadas para fora, este processo deve ocorrer semanalmente. Outra forma de realizar o monitoramento é através da avaliação visual onde se verifica a presença de ovos, ninfas e adultos em ramos novos da planta, em 1% das plantas da bordadura do talhão (MIRANDA, 2022). Segundo mesmo autor existem algumas medidas essenciais de controle sendo estas o controle químico e controle biológico, estes serão abordados a seguir.

2.1.6.4.1 Controle químico

Para um controle efetivo do psíldeo as aplicações devem ser feitas de acordo com o monitoramento realizado, sobretudo no final do inverno e primavera e início do verão visto que são consideradas épocas de surtos vegetativos. Os produtos utilizados devem estar de acordo com a ProteCitrus (Produtos para Proteção da Citricultura). Dentro desta lista de produtos existem cerca de 14 grupos químicos (neonicotinoide, carbamato, organofosforado, piretroide, butenolida, espinosinas, sulfoxaminas, neonicotinoide + piretroide, antranilamida + avermectina, piretroide + benzoilureia, antranilamida, benzoilureia, éter piridiloxipropílico, tiadiazinona) com um total de 60 produtos registrados para o manejo do psíldeo (MIRANDA, 2022).

O uso repetitivo de inseticidas do mesmo modo de ação, sem a rotação adequada; intervalos de aplicações de inseticidas acima de sete dias, durante as brotações; e número de pulverizações insuficientes em pomares adensados, são fatores que podem favorecer o processo de resistência dos insetos. Sendo assim necessário a utilização de pelo menos três modos de ação distintos (MIRANDA, 2022).

Segundo mesmo autor o manejo do psíldeo através do controle químico ocorre em três fases diferentes do pomar de citros, sendo estas: i) antes do plantio: nesta fase deve realizar a aplicação de inseticidas sistêmicos antes da muda sair do viveiro, com volume de aplicação de 50 ml por muda; ii) pomar de 0 a 3 anos e replantas: nesta fase a aplicação de inseticidas sistêmicos ocorre de duas formas, via drench e/ou tronco (este tipo de aplicação é realizada quatro vezes em diferentes épocas sendo estas, fim do inverno e início da primavera; na primavera, no verão e pode ser realizada uma adicional no outono) e aplicação foliar (realizada com intervalos de 7 a 14 dias principalmente em talhões localizados na borda da propriedade); iii) pomar acima de 3 anos: as recomendações para esta fase do pomar seguem as mesmas orientações de aplicação foliar citadas anteriormente.

2.1.6.4.2 Controle biológico

A expressão controle biológico foi utilizada pela primeira vez por Harry Scott Smith em 1919 para designar o uso de organismos vivos para suprimir a densidade e o impacto de um organismo praga específico (BARBOSA et al., 2021).

Este é caracterizado pelas relações ecológicas que envolvem a competição do homem com as pragas por recursos naturais e a presença do agente de controle como aliado do homem e inimigo natural da praga, este por sua vez ocorre de forma natural em qualquer ecossistema sem a necessidade do homem, porém, o homem pode vir a interferir e manipular e facilitar a ação do agente de controle (FONTES, PIRES, SUJII; 2020).

O controle biológico pode ser de três tipos diferentes, sendo estes, controle biológico por importação, controle biológico conservativo e controle biológico aumentativo (FONTES, PIRES, SUJII; 2020). Os agentes biológicos por sua vez podem ser de diversas classes, incluindo predadores e parasitoides referidos como entomófagos alimentando-se de insetos, bem como por patógenos onde se encontra as bactérias, fungos, nematoides, protozoários e vírus e assim são denominados entomopatogênicos capazes de causar doenças em insetos (BARBOSA et al., 2021).

2.1.6.4.2.1 Fungos entomopatogênicos

Sabemos que fungos entomopatogênicos são espécies capazes de causar doenças ou até mesmo a morte de insetos, bem como podem afetar alguns outros artrópodes da classe Arachnida. Estes podem ser tanto benéficos ao homem visto que pode ser utilizado como agente de controle de insetos pragas, como também não benéfico visto que pode afetar os insetos que são considerados úteis e os inimigos naturais (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020).

Com relação a características ecológicas e a interação com ambiente, fungos entomopatogênicos requerem elevada umidade relativa, temperaturas moderadas e proteção contra radiação solar para que esse possa posteriormente germinar (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020). Destas condições citadas anteriormente a que mais se destaca é a radiação solar visto que por uma exposição de apenas trinta segundos é possível fazer com que reduza consideravelmente a germinação dos fungos (BRAGA et al., 2015).

O processo de infecção por fungos entomopatogênicos ao contrário de outros microrganismos se dá através do contato, este se resume em cinco fases; i) adesão, ii) germinação, iii) penetração, iv) colonização interna e v) disseminação (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020).

Algumas espécies de fungos entomopatogênicos já foi confirmada para *D. citri*, como por exemplo *Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, *Hirsutella citriformis*,

Lecanicillium lecanii, *L. muscarium*, *L. longisporum*, *Metarhizium anisopliae* e *M. brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) (CONCESCHI et al., 2016). No mercado atual, para controle biológico do psilídeo dos citros encontramos três espécies de fungos entomopatogênicos, entre os quais temos *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea* (MIRANDA, 2022).

2.1.6.3.2.1.1 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (1835)

Identificado por Agostino Bassi Vuillemin em 1835, antes denominado como *Betrytis bassiana*, este fungo entomopatogênico foi o primeiro a ser reconhecido como um agente causal de doença para o bicho da seda (DONGARE et al., 2018). *B. bassiana* engloba um complexo de espécies conhecido como *B. bassiana* sensu lato (REHNER E BUCKLEY, 2011). Este apresenta uma enorme diversidade de insetos hospedeiros envolvendo várias ordens e famílias (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020).

O processo de infecção do fungo no inseto envolve interações eletrostáticas e hidrofóbicas. Os conídios de *B. bassiana* apresentam uma camada de proteínas denominadas de hidrofobinas como revestimento, o que contribui para adesão e virulência (WANG; ST. LEGER, 2007). Apresenta compostos tóxicos aos insetos que atuam em suas camadas lipídicas danificando assim a membrana celular dos hospedeiros, o que aumenta a virulência do fungo entomopatogênico (SUZUKI et al., 1977).

Dentro do conjunto de produtos biológicos apresentados pela ProteCtirus, sete apresentam como ingrediente ativo *Beauveria bassiana* de forma isolada e somente dois destes apresentam registro para controle de *D. citri*. Outra forma de apresentação de *B. bassiana* é em mistura com *Metarhizium anisopliae*, desta mistura a ProteCitrus apresenta dois produtos e ambos não apresentam registro para *D. citri* (MIRANDA, 2022).

Apesar dos poucos produtos registrados para *D. citri* com *B. bassiana* a utilização deste fungo como método de controle vem mostrando resultados positivos. Este fungo causa uma mortalidade aos insetos de 64,4% em condições de laboratório e de 62,2% em condições de campo (ULLAH et al., 2018). Em um estudo semelhante verificaram-se uma eficiência de controle de 60% de mortalidade em condições de laboratório e de 83,5% em condições de campo (SALDARRIAGA AUSIQUE et al., 2017).

2.1.6.3.2.1.2 *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. 1879

A espécie *Metarhizium anisopliae* foi originalmente descrita por Metschnikoff em 1879 como *Entomophthora anisopliae*, este fungo foi encontrado na região de Odessa na Ucrânia, infectando larvas do besouro do trigo *Anisoplia austriaca* e posteriormente sobre *Cleonus punctiventris*. No ano de 1883 foi transferido para o gênero *Metarhizium* por

Sorokin. A primeira revisão feita sobre o fungo foi feita por Tulloch em 1976 (Zimmermann, 2007).

O complexo de espécies conhecido de *Metarhizium* spp. é composto por agrupamentos de espécies denominados de PARBH (*M. pinghaense*, *M. anisopliae*, *M. robertsii*, *M. brunneum*, *M. humberi*) (LUZ et al., 2019) e MGT (*M. majus*, *M. guizhouense*), além de *M. acridum*, *M. globosum* e *M. lepidiotae* (SCHNEIDER, 2011). Atualmente este apresenta uma enorme diversidade de insetos hospedeiros envolvendo várias ordens e famílias (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020).

Os conídios de *Metarhizium* apresentam características hidrofóbicas o que favorece a adesão na cutícula do inseto. O processo de germinação do fungo no inseto inicia dentro de 20 horas após a adesão do conídio na cutícula do inseto (ZIMMERMANN, 2007). Durante a colonização do inseto o fungo produz uma ampla gama de metabólitos secundários e toxinas, variando de acordo com a espécie. O tempo para matar o inseto pode variar de 5 a 30 dias dependendo do hospedeiro, de seu estágio de desenvolvimento, da virulência do fungo e das condições ambientais, em condições muito secas o fungo pode permanecer dentro do cadáver, caso contrário este forma conídios fora do corpo (SCHNEIDER, 2011).

Dentro do conjunto de produtos biológicos apresentados pela ProteCtirus, cinco apresentam como ingrediente ativo *Metarhizium anisopliae* de forma isolada não apresentando registro para controle de *D. citri*. Assim como para *B. bassiana* a mistura dos dois fungos não apresenta registro para controle de *D. citri* (MIRANDA, 2022).

Apesar de não existir produtos registrados para *D. citri* com *M. anisopliae* estudos vêm sendo realizados para avaliar sua eficiência, sendo estes apresentando resultados bem diferentes.

Através de um screening de cepas de *M. anisopliae* verificaram-se que este fungo é capaz de causar uma mortalidade de 40 a 50% para ninfas e de 50% para adultos de *D. citri* (LEZAMA-GUTIÉRREZ et al., 2012), sendo possível se equivaler ao controle químico (LEZAMA-GUTIÉRREZ et al., 2014).

Resultados contrários foram encontrados mostrando que formulações com *M. anisopliae* causam uma baixa mortalidade de ninfas e adultos, (29 a 37%) e (22 a 26%), respectivamente (MAJEED et al., 2017). Apesar de apresentar patogenicidade para cigarrinhas das pastagens e da cana de açúcar, e apresentar uma ampla gama de hospedeiros, *M. anisopliae* causou menos de 30% de mortalidade para *D. citri* (PADULLA E ALVES, 2009).

2.1.6.3.2.1.3 *Isaria fumosorosea* Wize, 1904

Descrito inicialmente como *Paecilomyces fumosoroseus* por M. wize em 1904, classificado como *Isaria fumosorosea* (LUANGSA-ARD et al., 2005), recentemente o nome foi modificado para *Cordyceps fumosorosea* (KEPLER et al., 2017), este fungo entomopatogênico foi descoberto em um gorgulho de beterraba na Ucrânia (ARÉVALO ROJAS, 2015).

Este fungo está presente no solo, no ar e nas plantas, presente em quase todos os continentes, com exceção da Antártica (ARÉVALO ROJAS, 2015). Segundo mesmo autor este já foi isolado de mais de 40 espécies de artrópodes, de diferentes ordens como por exemplo, coleoptera, díptera, hemíptera, hymenoptera, lepidoptera, orthoptera, dictyoptera, thysanoptera e acari (VALADARES INGLIS, LOPES, FARIA; 2020).

Este fungo é utilizado principalmente para controle de mosca branca e pulgão (HOY; RAGHUWINDER; ROGERS, 2010). Porém foi encontrado naturalmente infectando adultos de *D. citri* na Flórida (MEYER; HOY; BOUCIAS, 2008). O fungo não afeta os agentes de controle biológico natural de *D. citri*, portanto pode ser utilizado em conjunto no manejo integrado do psilídeo (HOY; RAGHUWINDER; ROGERS, 2010).

Oito diferentes tipos de micopesticidas com ingrediente ativo *I. fumosorosea* haviam sido desenvolvidos em todo mundo (FARIA E WRAIGHT, 2007). No Brasil até o ano de 2015 não haviam sido registrados produtos à base de *I. fumosorosea* no mercado (ARÉVALO ROJAS, 2015) e poucos estudos haviam sido feitos com espécies deste gênero de fungo, apesar de haver uma demanda crescente de estudos especialmente para controle de mosca branca e do psilídeo dos citros.

Com tudo no ano de 2017 foi registrado sob nº 28617 o primeiro produto com ingrediente ativo *Isaria fumosorosea* registrado para controle de *D. citri* pela empresa Koppert (FUNDECITRUS, 2017). Dentro do conjunto de produtos biológicos apresentados pela ProteCtirus, três apresentam como ingrediente ativo *Isaria fumosorosea* de forma isolada sendo todos registrados para controle de *D. citri* (MIRANDA, 2022).

Alguns isolados de *I. fumosorosea* apresentam patogenicidade contra ninfas e adultos de *D. citri* em condições de laboratório, semi-campo e campo no Brasil (PADULLA e ALVES, 2009; CONCESCHI, 2013; AUSIQUE, 2014).

2.3 Indutores de resistência

De longe a principal forma de proteção contra patógenos é através do controle químico. O uso excessivo de fertilizantes e pesticidas sintéticos no cultivos das plantas podem

contribuir positivamente para o aumento da produtividade como também pode causar um desequilíbrio ambiental e afetar a saúde do ser humano (KUMARASWAMY et al., 2018).

Em consequência dos efeitos indesejáveis causados, existe uma tendência para redução de agentes químicos para proteção de plantas (XING et al., 2015), novas estratégias de manejo vêm sendo estudadas para controle dos insetos pragas, sendo uma destas através da utilização de produtos naturais visto que desempenham um papel de indutores de resistência, importante na proteção efetiva das plantas contra patógenos (DALASTRA et al., 2010).

A indução de resistência de plantas a insetos é uma das estratégias potencial no manejo integrado de pragas que pode provocar mudanças na qualidade e quantidade de metabólitos secundários e de proteínas de defesa, este processo envolve a ativação de mecanismos latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento de agentes bióticos e abióticos (MONTES, MONTES, RAGA, 2015). Vários indutores têm se mostrado efetivos para redução de pragas das culturas agrícolas (YARAHMADI et al. 2022) inclusive sobre pragas com hábitos sugadores (GHAZANFAR et al. 2020; LIN, et al. 2022).

2.3.1 Silício

Em um aspecto mais sustentável, a utilização do silício (Si) representa uma tecnologia ambientalmente correta e com potencial para diminuir a frequência do uso dos inseticidas (SILVA et al., 2010). Sendo considerado como um metaloide, este é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre. O Si não é considerado um elemento nutricional essencial para as plantas, entretanto é um elemento benéfico para o crescimento e desenvolvimento das plantas (GAUR et al., 2020). Este apresenta capacidade de induzir resistência em muitas espécies de plantas a fatores de estresse biótico e abiótico (YE et al., 2013).

O aumento da resistência das plantas aos herbívoros pode ser causado pela redução da digestibilidade e/ ou aumento da dureza dos tecidos das plantas, devido à deposição da sílica amorfa nas células da epiderme, que por sua vez dificulta o processo de alimentação do inseto, seja pelo processo da inserção do estilete nas plantas (no caso de insetos sugadores) como no processo de trituração dos alimentos (no caso de insetos mastigadores) (REYNOLDS et al., 2009).

O silício atua como ativador nos processos de resistência induzida, sendo assim, este influencia nas respostas bioquímicas da planta e na síntese de enzimas de defesa ou da possível melhoria na liberação de voláteis responsáveis pela atração de inimigos naturais ou

atuando como inibidores/ repelentes na planta, melhorando assim o controle biológico contra herbívoros (REYNOLDS et al., 2009).

2.3.2 Quitosana

A quitosana vem ganhando muito interesse devido suas propriedades e suas possíveis aplicações. Todo ano o número de publicações e patentes de produtos com esse polímero cresce (ARANAZ et al., 2021). Este destaque está relacionado a sua efetiva contribuição para o aumento da produtividade e sustentabilidade agroambiental (SHAHRAJABIAN et al., 2021).

A quitina é um biopolímero presente em exoesqueletos de crustáceos, cutículas de insetos, algas e na parede celular de alguns fungos. A quitosana por sua vez é um derivado desacetilado da quitina, obtido através de processos físico-químicos, bem como pode ser encontrado na natureza em alguns fungos do gênero *Mucoraceae* (GHORMADE, PATHAN, DESHPANDE, 2017).

A quitosana tem desempenhado papel para proteção das plantas contra pragas e doenças antes e após a colheita; melhoria da ação de microrganismos antagonistas e controles biológicos; melhoria nas interações benéficas entre plantas e microrganismos simbióticos; e auxílio no desenvolvimento das plantas (LIMA, BONILLA, LUCENA, 2022). Este polímero também apresenta capacidade de modular e melhorar a resistência de plantas contra fatores bióticos e abióticos (SHAHRAJABIAN et al., 2021). A quitosana quando associada a fungos entomopatogênicos apresenta a capacidade de aumentar a esporulação do mesmo sem afetar sua viabilidade e sua patogenicidade (PALMA-GUERRERO et al., 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O estudo foi conduzido na Universidade Estadual de Londrina (UEL), localizada Rodovia Celso Garcia Cid, Pr. 445, km 380 (548 metros de altitude, latitude 23° 20' 22.6" S e longitude 51° 12' 36" O) e no Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR – PR), localizado na Rodovia Celso Garcia Cid, Pr. 445, km 375 (568 metros de altitude, latitude 23° 21' 21" S e longitude 51° 09' 51" O), ambos em Londrina, PR. O clima, segundo classificação de Köppen, é do tipo subtropical (Cfa), com precipitação média anual de 1.600 a 1.800 mm e temperatura média anual de 21 a 22 °C (NITSCHE et al., 2019).

3.2 Aquisição dos insetos e plantas

Adultos de *Diaphorina citri* foram obtidos a partir de uma criação estabelecida no Laboratório de Entomologia do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR – PR) em Londrina - PR. Insetos adultos de 7 a 10 dias de idade, foram coletados utilizando-se um aspirador entomológico ligado a um compressor, conectado em tubos tipo Falcon de 50 ml

Vasos com uma planta de murta (*Murraya paniculata*) foram obtidas a partir de cultivo estabelecido no Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR – PR). para uso nos experimentos por serem hospedeiras de *D. citri* (Figura 1).

Figura 1 Plantas de murta (*Murraya paniculata*) com uma planta por vaso. Londrina, 2022.



3.3 Tratamentos

Os produtos utilizados nos tratamentos nos diversos experimentos estão apresentados na Tabela 1. Foram utilizados três fungos entomopatogênicos: *Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sozinhos ou em mistura com bioestimulantes (cálcio biogênico + dióxido de silício e ou contendo d-glucosamina extraída de quitosana + Zn); um produto químico do grupo dos piretroides + antranilamida; e um adjuvante organossiliconado. Estes produtos foram aplicados seguindo a dose recomendada de cada produto (Tabela 1).

Tabela 1 Descrição produtos utilizados no trabalho, bem como seus ingredientes ativos e doses por experimento. Londrina, 2023.

ABREVIACÃO	PRODUTOS	i.a.	Dose do produto comercial (g ou ml / L)	
			EXP 1	EXP 2 - 4
QUÍM	AMPLIGO	Lambda-cialotrina + Clorantranilprole	0.1	0.1
BOV	BOVERIL	<i>Beauveria bassiana</i> (CEPA ESALQ PL63)	4	10
MET	METARRIL	<i>Metarhizium anisopliae</i> (CEPA ESALQ E9)	3	3
OCT	OCTANE	<i>Isaria fumosorosea</i> (CEPA ESALQ 1296)	3.2	4
TCPZn	TECH CROP POWER Zn	D-glucosamina de quitosana + Zn	1.5	1.5
TCPSi	TECH CROP Si	Cálcio biogênico + Dióxido de silício	7.5	7.5
ADJ	SILWET	Adjuvante Organossiliconado	-	0.5 (EXP 4)

3.4 Bioensaios

Foram utilizadas gaiolas que tinham três hastes de aço como sustentação, um aro de aço maleável (de 20 cm de diâmetro) localizado na parte superior e uma manga em tecido de *voil*. Para prender o *voil* no vaso e amarrar a parte superior foram utilizados elásticos. No fundo do vaso foi colocado uma folha de papel filtro branco, para facilitar a contagem de insetos mortos (Figura 2).

Figura 2 Da esquerda para direita, vaso com planta de murta com papel filtro de cor branca; gaiolas feitas com hastes de aço; e gaiola pronta com *voil*. Londrina, 2023.



Para liberação dos insetos, os tubos Falcon eram semiabertos e vertidos dentro da gaiola sempre tomando cuidado para que a abertura superior sempre estivesse o mais fechado possível para não escapar nenhum inseto. Estes insetos permaneciam por aproximadamente 24 horas para que pudessem se ambientar nas plantas.

3.5 Preparo da calda

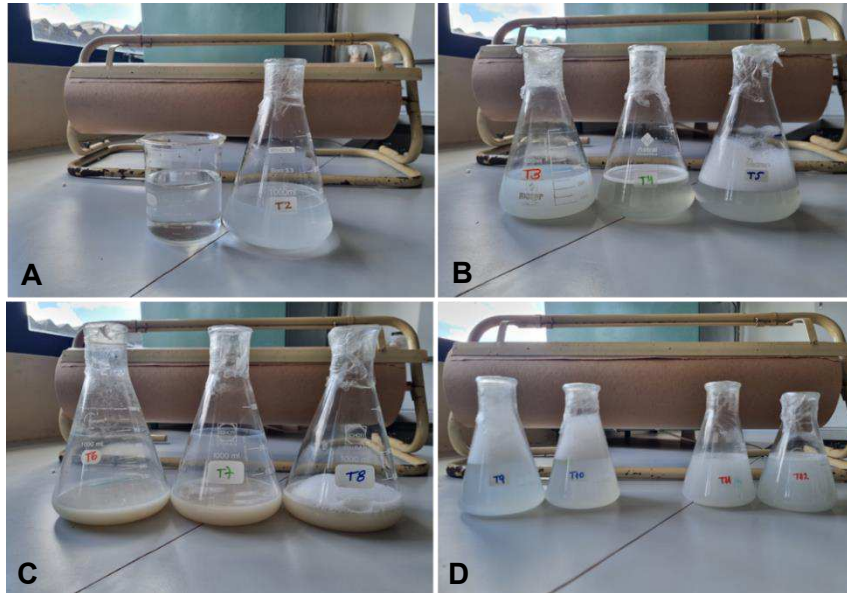
Realizar misturas de produtos de diferentes categorias (inseticidas, reguladores vegetais, herbicidas, fungicidas etc.), e em ordens diferentes, sem seguir as recomendação pode vir acarretar uma incompatibilidade fazendo com que ocorra alterações físico-químicas da calda no momento antecedente à aplicação (DELLA VECHIA, 2017).

Para o preparo da calda, inicialmente, mediu-se o pH da água destilada pura, água + TCPZn, água + TCPSi e água + TCPZn + TCPSi, com auxílio de um pHmetro de bancada QUIMIS MODELO Q400A e verificou-se que ao misturar os indutores de resistência na água o pH ficou na faixa de 6,9. Segundo o fabricante dos produtos biológicos, eles suportam uma faixa de pH entre 5 e 8,5, portanto o pH da calda estava dentro da faixa aceitável.

Separadamente, diluíram-se os produtos contendo quitosana (TCPZn) e o produto contendo dióxido de Si + Carbonato de Ca (TCPSi). Posteriormente, foram misturados formando uma calda única, na qual foram adicionados os produtos biológicos (Figura 3). Esta ordem é importante para que não ocorra um fenômeno denominado de gelificação iônica que consiste na capacidade gelificante do polissacarídeo alginato de sódio (presente no TCPZn) ao entrar em contato com cálcio solúvel (presente no TCPSi), formando um complexo (YANG; XIE; HE, 2011).

Os produtos biológicos com ingredientes ativos em pó foram pesados em balança de precisão BEL ENGINEERING ANALITICS Ltda. com capacidade de 200g e para os líquidos foi utilizado uma pipeta da marca Gilson Pipetman de 1000 μ L.

Figura 3 Caldas preparadas para o experimento; testemunha (T1) e tratamento químico (T2) (Figura 3.A); tratamentos três, quatro e cinco (referentes aos produtos biológicos puro (Figura 3.B); tratamentos seis, sete e oito (referente aos produtos biológicos associados aos indutores de resistência) (Figura 3.C); tratamentos nove e doze (referente aos produtos biológicos associados ao adjuvante siliconado) e tratamentos dez e onze (referente aos produtos biológicos adicionados de quitosana e adjuvante siliconado) (Figura 3.D). Londrina, 2022.



3.6

mortalidade dos insetos

Avaliação de

Para verificar a eficiência dos tratamentos foi realizada avaliação de mortalidade dos insetos de forma visual com auxílio de um microscópio estereoscópico SZX7 Olympus. Os insetos que apresentavam os tegumentos encurvados, bem como pela não fixação das pernas e apêrto bucal nas plantas de murta (caídos no papel filtro branco), apresentando uma característica de desidratação, visível através da perda de volume do corpo sem qualquer indício de esporulação, eram considerados mortos (FERREIRA PINTO et al., 2012). Para os experimentos 1 e 2 estas foram realizadas nos seguintes tempos após a aplicação, 24h; 96h; 144h; 192h e 240h; já para os experimentos 3 e 4 estas foram realizadas 24; 96; 144; 192; 240; 288; 336; 384; 432 e 480 horas após a aplicação (HAA).

3.7 Experimento 1

O primeiro experimento foi conduzido em casa de vegetação de vidro sem controle de umidade relativa do ar e temperatura do ar (médias de $34^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e UR = 35%) medidos por termo-higrômetro digital, marca AKSO modelo AK28. Neste experimento foram utilizados oito tratamentos (Tabela 2) repetidos três vezes. Para cada repetição (gaiola) foram utilizados dez insetos adultos de *Diaphorina citri*. Utilizaram-se borrifadores manuais tipo spray de 100mL para realizar a pulverização de 5mL (determinada por testes prévios) da calda na parte superior da gaiola. O experimento foi instalado no dia 21/09/2022 e finalizado dia 01/10/2022.

Tabela 2 Descrição dos tratamentos aplicados sobre plantas de murta para avaliação de mortalidade de adultos de *Diaphorina citri*. Londrina-PR, 2023.

Sigla	Produtos comerciais	Dose do produto comercial (g ou ml / L)	Ingrediente ativo	Volume de calda aplicado	Sentido da aplicação
T1	Água (testemunha)	-	-	5ml	↓ ¹
T2	QUIM	0,1	Piretroides + Antranilamida	5ml	↓
T3	OCT	3,2	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	5ml	↓
T4	MET	3,0	<i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa ESALQ E9)	5ml	↓
T5	BOV	4,0	<i>Beauveria bassiana</i> (cepa ESALQ PL63)	5ml	↓
T6	OCT + TC Si + TCP Zn	3,2 + 7,5 + 1,5	mistura	5ml	↓
T7	MET + TC Si + TCP Zn	3,0 + 7,5 + 1,5	mistura	5ml	↓
T8	BOV + TC Si + TCP Zn	4,0 + 7,5 + 1,5	mistura	5ml	↓

¹ sentido da aplicação de cima para baixo

3.8 Experimento 2

O segundo experimento foi conduzido em casa de vegetação modelo Van Der Hoeven com temperatura do ar e umidade relativa do ar controladas ($T^{\circ} = 26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e UR = $\approx 67\%$). Neste experimento foram realizados oito tratamentos (Tabela 3) repetido três vezes. Para cada repetição (gaiola) foram utilizados dez insetos adultos de *Diaphorina citri*.

O volume de calda aplicado neste experimento foi ajustado, sendo aplicados 10ml de calda através de borrifadores manuais tipo spray em uma direção somente, sendo esta da parte superior da gaiola para inferior. O experimento foi instalado no dia 07/10/2022 e finalizado dia 17/10/2022.

Tabela 3 Descrição dos tratamentos aplicados sobre plantas de murta para avaliação de mortalidade de adultos de *Diaphorina citri*. Londrina-PR, 2022.

Sigla	Produtos comerciais	Dose do produto comercial (g ou ml / L)	Ingrediente ativo	Vol. aplicado	Sentido da aplicação
T1	Água (testemunha)	-	-	5ml	↓ ¹
T2	QUIM	0,1	Piretroides + Antranilamida	5ml	↓
T3	OCT	4,0	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	5ml	↓
T4	MET	3,0	<i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa ESALQ E9)	5ml	↓
T5	BOV	10,0	<i>Beauveria bassiana</i> (cepa ESALQ PL63)	5ml	↓
T6	OCT + TC Si + TCP Zn	4,0 + 7,5 + 1,5	mistura	5ml	↓

T7	MET + TC Si + TCP Zn	3,0 + 7,5 + 1,5	mistura	5ml	↓
T8	BOV + TC Si + TCP Zn	10,0 + 7,5 + 1,5	mistura	5ml	↓

¹ sentido da aplicação de cima para baixo

3.9 Experimento 3

O terceiro experimento foi conduzido em casa de vegetação modelo Van Der Hoeven com temperatura do ar e umidade relativa do ar controladas ($T^{\circ} = 26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR} \approx 67\%$). Foram realizadas duas aplicações, em 26/10/2022 e 02/11/2022. Neste experimento foram realizados oito tratamentos (Tabela 4) repetido três vezes. Para cada repetição (gaiola) foram utilizados vinte e cinco insetos adultos de *Diaphorina citri*.

A aplicação foi feita através de um borrifador tipo spray com capacidade de 100 ml em dois sentidos, da parte superior da gaiola para inferior e da parte inferior para parte superior, sendo 5ml e 5ml respectivamente, totalizando assim 10ml de calda aplicada. O experimento foi instalado no dia 26/10/2022 e finalizado dia 15/11/2022.

Tabela 4 Descrição dos tratamentos aplicados sobre plantas de murta para avaliação de mortalidade de adultos de *Diaphorina citri*. Londrina-PR, 2022.

Sigla	Produtos comerciais	Dose do produto comercial (g ou ml / L)	Ingrediente ativo	Volume aplicado	Sentido da aplicação
T1	Água (testemunha)	-	-	10ml	↓↑ ¹
T2	QUIM	0,1	Piretroides + Antranilamida	10ml	↓↑
T3	OCT	4,0	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	10ml	↓↑
T4	MET	3,0	<i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa ESALQ E9)	10ml	↓↑
T5	BOV	10,0	<i>Beauveria bassiana</i> (cepa ESALQ PL63)	10ml	↓↑
T6	OCT + TC Si + TCP Zn	4,0 + 7,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T7	MET + TC Si + TCP Zn	3,0 + 7,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T8	BOV + TC Si + TCP Zn	10,0 + 7,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑

¹ sentido da aplicação nos dois sentidos de cima para baixo e de baixo para cima

3.10 Experimento 4

Através dos resultados obtidos no experimento 3 (citado anteriormente), um ensaio adicional foi instalado para verificar o eventual efeito de adjuvante siliconado (SILWET[®] 0.05%). Este experimento foi instalado dia 23/11/2022 e finalizado dia 12/12/2022. Foram realizados doze tratamentos (Tabela 5) repetido três vezes. Para cada repetição (gaiola) foram liberados trinta insetos adultos de *D. citri*. Outros aspectos da metodologia foram idênticos àqueles do experimento 3.

Tabela 5 Descrição dos tratamentos aplicados sobre plantas de murta para avaliação de mortalidade de adultos de *Diaphorina citri*. Londrina-PR, 2022.

Sigla	Produtos comerciais	Dose do produto comercial (g ou ml / L)	Ingrediente ativo	Volum e aplicado	Sentido da aplicação
T1	Água (testemunha)	-	-	10ml	↓↑ ¹
T2	QUIM	0,1	Piretroides + Antranilamida	10ml	↓↑
T3	OCT	4,0	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	10ml	↓↑
T4	MET	3,0	<i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa ESALQ E9)	10ml	↓↑
T5	BOV	10,0	<i>Beauveria bassiana</i> (cepa ESALQ PL63)	10ml	↓↑
T6	OCT + TC Si + TCP Zn	4,0 + 7,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T7	MET + TC Si + TCP Zn	3,0 + 7,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T8	BOV + TC Si + TCP Zn	10,0 + 7,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T9	BOV + ADJ	10,0 + 0,5	mistura	10ml	↓↑
T10	BOV + ADJ + TCP Zn	10,0 + 0,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T11	OCT + ADJ + TCP Zn	4,0 + 0,5 + 1,5	mistura	10ml	↓↑
T12	OCT + ADJ	4,0 + 0,5	mistura	10ml	↓↑

¹ sentido da aplicação nos dois sentidos de cima para baixo e de baixo para cima

3.11 Teste de germinação dos fungos entomopatogênicos

Foram recolhidos produtos com ingredientes ativos *B. bassiana*, *I. fumosorosea* e *M. anisopliae* da empresa Koppert disponíveis no laboratório de entomologia da UEL; e coletado uma amostra de um produto com i.a. *I. fumosorosea* da empresa Koppert na Embrapa Soja para realizar o teste de germinação (Tabela 6).

Tabela 6 Produtos utilizados para teste de germinação de esporos de fungos entomopatogênicos. Londrina, 2023.

Produto	Ingrediente ativo	Ano de aquisição	Instituição
Octane	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	2021	UEL
Octane	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	2021	EMBRAPA

Octane	<i>Isaria fumosorosea</i> (cepa ESALQ-1296)	2022	UEL
Boveril	<i>Beauveria bassiana</i> (cepa ESALQ PL63)	2022	UEL
Metarril	<i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa ESALQ E9)	2022	UEL

Os produtos foram submetidos a testes de germinação de esporos em lâminas de vidro esterilizadas contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose, ágar). As soluções foram feitas nas concentrações estipuladas pela bula de cada produto, estas foram aplicadas com pipetas de 1000ul de forma que cobrisse completamente a área da lâmina. As lâminas foram colocadas em gerbox de acrílico e posteriormente acondicionadas em uma câmara de aclimação com temperatura e umidade controladas ($T^{\circ} = 24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR} \approx 70\%$). Estas foram feitas em duplicatas e avaliadas em 24 e 48 horas após a aplicação. Para visualizar os esporos utilizou-se um microscópio modular OLYMPUS BX43.

3.12 Análises estatísticas

Com os dados obtidos, determinou-se a porcentagem de mortalidade para cada tratamento e realizou-se a correção da mortalidade pela fórmula de Schneider-Orelli (PÜNTENER, 1981). Esta metodologia foi escolhida devido a população ser uniforme.

Obteve-se também, para cada tratamento, a área abaixo da curva (AAC) de adultos mortos, baseado em Campbell & Madden (1990). Escolheu-se esta metodologia, por ser possível com um único valor, comparar a população ao longo do tempo nos diferentes tratamentos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos erros através do teste de

Shapiro-Wilk e homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene. Para o experimento 2, os dados foram submetidos à transformação por raiz quadrada de “x”, e para o agrupamento das médias da AAC, utilizou-se o teste de Scott-Knott (p-valor < 0,05).

Os dados foram analisados através do SOFTWARE R (R CORE TEAM, 2022), com auxílio do pacote AgroR (SHIMIZU, G; MARUBAYASHI, R; GONÇALVES, L; 2022).

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

O tratamento com inseticida químico (Ampligo) apresentou melhor resultado com relação a eficiência de controle, comparado com os demais tratamentos, com 86.7%; 93.3%; 46.5% e 85.4% nos experimentos 1, 2, 3 e 4, respectivamente, 24 horas após aplicação, após 48 horas nos experimentos 1,2 e 4, apresentou controle de 100% dos insetos e no experimento 3, no final da última avaliação, 80% (Figura 4).

Segundo dados do fabricante, a formulação do inseticida químico Ampligo é composto por um ingrediente ativo de contato, o lambda-cialotrina (piretroide) e outro de ingestão, o clorraniliprole (diamida). Sabe-se que os inseticidas químicos vêm sendo largamente utilizados para controle de *D. citri*, logo já se era esperado este ter demonstrado alta eficiência de controle.

O clorraniliprole foi previamente testado para controle do psilídeo, e pode amenizar os efeitos de uma “primeira onda” de HLB (CARMO-SOUZA et al. 2020). Este ingrediente ativo pertence ao grupo das diamidas, que, de maneira geral, ativam a liberação irregular dos estoques de cálcio das células dos insetos, o qual se liga à troponina e muda sua configuração, fazendo com que ela se desligue da tropomiosina. Em seguida, ocorre a liberação do sítio de ligação da actina/ miosina o que resulta na contração muscular (SATELLE et al., 2008). Assim, os insetos sofrem súbita cessação da alimentação, letargia, paralisia e por fim morte (HANNING et al., 2009)

Em outro screening de inseticidas, o lambda cialotrina foi efetivo para controle de *D. citri* mantendo a população baixa até 30 dias após a aplicação (YAMAMOTO et al. 2009). Sabe-se que inseticidas do grupo químico dos piretroides interagem com os canais de sódio distribuídos ao longo do axônio dos insetos, o que resulta em transmissão de impulsos repetitivos e descontrolados, hiperexcitabilidade, perda de postura locomotora ("knockdown") e, eventualmente, paralisia e morte (OMOTO, 2000).

Sabe-se que fungos entomopatogênicos requerem elevada umidade relativa, temperaturas moderadas e proteção contra radiação solar para que esse possa posteriormente germinar (VALADARES INGLIS; LOPES; FARIA, 2020). O experimento 1 conduzido em

casa de vegetação de vidro apresentou uma temperatura média de $34^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de aproximadamente 35%; enquanto para os experimentos 2, 3 e 4 conduzidos em casa de vegetação modelo Van Der Hoeven apresentaram temperatura média de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de aproximadamente 67%.

Experimento 1

Os resultados do teste de agrupamento das médias “SK” através da AAC, mostram que para o experimento 1 (Quadro 1), o tratamento seis (Octane + TechCrop Si + TechCrop Power Zn) e o tratamento três (Octane) diferiram estatisticamente da testemunha (p -valor < 0.05 , C.V. = 17,79%), apresentando uma eficiência de controle de 43,3% e 20,0% (Figura 4), respectivamente. Os demais tratamentos foram similares a testemunha.

A baixa mortalidade dos tratamentos com inseticidas biológicos, neste experimento, pode estar associada à sensibilidade dos fungos tanto pelas elevadas temperaturas, radiação solar e baixa umidade apresentada na casa de vegetação de vidro. Temperaturas superiores a $31,5^{\circ}\text{C}$ e teores de umidade de 35% afetam negativamente o crescimento de *M. anisopliae* (LANZA, MONTEIRO, MALHEIROS, 2009), bem como conídios de *M. anisopliae* expostos diretamente à radiação solar ficam totalmente inativos (BRAGA et al., 2001). O fungo *B. bassiana* expostos a elevadas temperaturas e à radiação solar pode reduzir significativamente sua viabilidade (INGLIS et al., 1995); sua germinação (FERNANDES et al., 2007) e o seu crescimento (CAGÁN; SVERCEL, 2001). Enquanto *I. fumosorosea* apresenta uma tolerância a radiação e a temperaturas elevadas (ARÉVALO ROJAS, 2015).

Outro fator que pode estar relacionado a esta baixa eficiência é o tipo de formulação dos inseticidas biológicos com ativos de fungos entomopatogênicos. Segundo fabricante (Koppert), o Octane é um produto com formulação em suspensão concentrada com aspecto oleoso, enquanto Boveril e Metarril apresentam-se em formulação do tipo pó molhável. Conídios armazenados em formulações oleosas apresentam uma maior viabilidade (MOORE et al., 1996).

A busca pelo desenvolvimento e industrialização de formulações à base de óleo usando *B. bassiana* e *M. anisopliae* foram feitas (COPPING, 2004), visto que, formulações de fungos entomopatogênicos em óleo aumentam a sua infectividade em comparação com formulações convencionais a base de água ou em pó (BATEMAN; MATHEWS; HALL; 1993, 2007).

Experimento 2

Os resultados do teste de agrupamento das médias “SK” através da AAC, mostram que para o experimento 2 (Quadro 1), o Boveril; Boveril + TechCrop Si + TechCrop

Power Zn e o Octane apresentaram mortalidade superior à testemunha (p-valor < 0.001, C.V. = 30,04%), apresentando uma eficiência de controle de 63,3%, 56,7% e 16,7% (Figura 4), respectivamente. Os demais tratamentos foram similares à testemunha.

Para os experimentos 3 e 4, optou-se realizar a aplicação em dois sentidos, na parte superior da gaiola e na parte inferior de forma que atingisse o inseto por completo, visto que, a adesão dos conídios em *D. citri* é mais significativa no processo de infecção quando presentes no abdômen e na parte dorsal anterior (ARNOSTI et al., 2019). Nestes experimentos a aplicação dos tratamentos seguiu a recomendação do produto registrado Octane, sendo esta, realizar pelo menos duas aplicações com intervalo de sete dias para garantir um controle efetivo da praga.

Experimento 3

Os resultados do teste de agrupamento das médias “SK” através da AAC, mostram que para o experimento 3 (Quadro 1), o tratamento Boveril + TechCrop Si + TechCrop Power Zn, Boveril e o Octane diferiram estatisticamente da testemunha (p-valor < 0.001, C.V. = 29.109%), apresentando uma eficiência de controle de 45.1%, 43.7% e 39.4% (Figura 4), respectivamente, os demais tratamentos foram similares a testemunha.

Experimento 4

Os resultados do teste de agrupamento das médias “SK” através da AAC, mostram que para o experimento 4 (Quadro 1), o tratamento Boveril + TechCrop Si + TechCrop Power Zn apresentou 79.1% de eficiência de controle, seguidos pelos tratamentos, Boveril + TechCrop Power Zn + Silwet, Boveril e Boveril + Silwet com eficiências de controle de 68.7%, 70.1% e 61.2%, respectivamente. Os demais tratamentos foram similares a testemunha.

Diante os resultados expostos dos experimentos 2, 3 e 4, os tratamentos microbianos contendo *B. bassiana*, foram os que se apresentaram mais eficientes no controle de *D. citri*, embora não registrado para *D. citri*, seguido do tratamento contendo *I. fumosorosea*, registrado, e os tratamentos com *M. anisopliae* foram similares à testemunha.

Diversos são os trabalhos mostrando a eficiência de *B. bassiana* sobre ninfas e adultos de *D. citri* (PADULLA; ALVES, 2009; FERREIRA PINTO et al., 2012; SALDARRIAGA AUSIQUE et al., 2017; IBARRA-CORTES et al., 2017; ULLAH et al., 2018; RAMIREZ-GODOY et al., 2018).

Sabe-se que a quitosana quando associada a fungos entomopatogênicos apresenta a capacidade de aumentar a esporulação do mesmo sem afetar sua viabilidade e sua patogenicidade (PALMA-GUERRERO et al., 2010).

Apesar do Si apresentar atividade no controle de doenças causadas por patógenos fúngicos e bacterianos em diferentes espécies de plantas (RODRIGUES E DATNOF, 2015), este apresenta capacidade de exercer efeitos atenuantes em vários estresses abióticos, incluindo danos por radiação e alta temperatura as plantas (WANG et al., 2017). Diversas são as fontes tradicionalmente de silício utilizadas sendo alguns exemplos os silicatos de cálcio, potássio, magnésio ou escórias de siderurgia que apresentam baixíssimos teores de silício solúvel (CAMARGO et al., 2011).

O sinergismo entre produtos de origem silicatada e fungos parasitas de insetos tem sido demonstrado através de uma amplitude de interações, como a quebra de barreiras lipídicas na cutícula dos insetos, facilitando a penetração e colonização dos fungos (STORM et al. 2016), fato este que pode explicar o melhor desempenho do tratamento Boveril + TechCrop Si + TechCrop Power Zn nos experimentos.

Compostos silicatados também possuem potencial de conferir maior termo tolerância a esporos de fungos parasitas de insetos, inclusive, aumentando sua virulência e patogenicidade (KIM et al. 2014). Sugere-se haver sinergismo entre o fungo *B. bassiana* e K_2SiO_3 aumentando a susceptibilidade a infecções fúngicas causando sua morte (GATARAYIHA et al., 2010). Previamente, a mistura de *B. bassiana* com silicato de potássio também apresentou efeito sinérgico apresentando valores superiores de eficiência de controle quando comparado ao inseticida Polytrin (SILVA, 2019).

Teste de germinação

A baixa eficiência dos produtos Octane e Metarril geraram uma dúvida e assim decidiu-se realizar o teste de germinação para averiguar a viabilidade, visto que em literatura eles se apresentam eficientes contra *D. citri*.

O teste de germinação dos esporos dos fungos entomopatogênicos mostram que o produto Octane Embrapa 2021 germinou dentro do período de 24 e 48 horas enquanto o Boveril Uel 2022 iniciou o processo de germinação 24 horas após inoculação e dentro de 48 horas era possível ver o crescimento das hifas. Os produtos Octane Uel 2021/22 e Metarril Uel 2022 não apresentaram germinação em nenhum dos dois horários de avaliação mostrando-se assim inviáveis (Figuras 5 e 6).

Diferente do que foi encontrado neste experimento, esporos de *B. bassiana* iniciam seu processo de germinação dentro de um período de 8 horas após inoculação e 24 horas após já se consegue ver o crescimento das hifas por inteiro (LIU et al., 2015). Conídios debilitados, caracterizados por lenta germinação, são menos virulentos que os conídios vigorosos (FARIA et al., 2015).

Os produtos utilizados neste experimento foram recebidos da empresa fabricante e armazenados em geladeira até a utilização. Porém, não se teve controle adequado nas condições de transporte. Estes materiais foram transportados no verão em condições de elevada temperatura, o que pode ter afetado a qualidade dos produtos. Também não teve controle de temperatura em geladeira no armazenamento na universidade, após seu recebimento. Uma eventual queda de energia, poderia, eventualmente, elevar muito as temperaturas e inviabilizar o produto.

Adição de adjuvante na calda

Sabendo que os produtos estavam inviáveis realizou-se a mistura do produto Octane UEL 2022 com adjuvantes para verificar o efeito do mesmo sobre os insetos. Desta forma obteve-se que os tratamentos Octane + Silwet e Octane + TechCrop Power Zn + Silwet apresentaram uma eficiência de controle de 47.8% e 43.3% respectivamente, superiores aos tratamentos Octane e Octane + TechCrop Si + TechCrop Power Zn que apresentaram 19.4% e 16.9%.

Vale ressaltar que adjuvantes como o Breakthru (COOMBES et al., 2016), Silwet, Tween 80 e KBRAAdj (ARNOSTI et al., 2019) não apresentam incompatibilidade com fungos entomopatogênicos. O efeito real dos ingredientes ativos pode ser confundidos com a atividade surfactante quando associados a inseticidas e acaricidas (PURITSH, 1981 citado por VERONESE, 2015).

Assim sugere-se que a mortalidade dos insetos foi causada devido a ação do adjuvante Silwet, visto que a composição da cutícula do inseto apresenta lipídeos, proteínas e polifenóis (GALLO et al., 2002) e que adjuvantes atuam como um surfactante rompendo as membranas, atuando como solubilizantes lipídicos, os quais modificam sua integridade e permeabilidade.

Sendo assim estes quando em contato com os insetos pode ter alterado os processos fisiológicos causando sua morte (VERONESE, 2015). Como forma de comprovação, bioensaios com ácaros revelam que soluções surfactantes podem causar mais de 90% de mortalidade (COWLES et al., 2000).

Quadro 1 Condições de temperatura e umidade dos ambientes de estudo (casa de vegetação) e resultados com relação a eficiência de controle por tempo representados em área abaixo da curva (AAC) dos experimentos. Londrina, 2023.

CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E UMIDADE DOS AMBIENTES DOS EXPERIMENTOS							
Casa de vegetação	Vidro	Van Der Hoeven		Van Der Hoeven		Van Der Hoeven	
T (C°) ¹	34°C ± 2°C	26°C ± 2°C		26°C ± 2°C		26°C ± 2°C	
UR (%) ²	≈ 35%	≈ 67%		≈ 67%		≈ 67%	
RESULTADOS EM ÁREA ABAIXO DA CURVA (AAC) DOS EXPERIMENTOS							
TRATAMENTOS	AAC EXP 1	TRATAMENTOS	AAC EXP 2	TRATAMENTOS	AAC EXP 3	TRATAMENTOS	AAC EXP 4
2	2216 a	2	2248 a	2	7836 a	2	13936 a
6	664 b	5	980 b	8	4036 b	8	11056 b
3	284 c	8	728 b	5	3992 b	10	9316 c
7	48 d	3	260 c	3	2932 b	5	9308 c
8	48 d	6	76 d	6	1784 c	9	9232 c
5	24 d	1	24 d	1	1180 c	12	6972 d
1	16 d	4	16 d	4	1096 c	11	5560 e
4	0 d	7	0 d	7	564 c	3	2824 f
						6	2168 f
						7	908 g
						1	860 g
						4	768 g
CV (%)	17.795	30.045		29.109		17.66	
p-valor	p < 0.001	p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001	
Transformação	s/ transf.	raiz(x)		s/ transf.		s/ transf.	

Figura 5 Verificação da viabilidade do produto Octane através do teste de germinação de esporos em lâmina de vidro contendo meio de cultura BDA, avaliados após 24 e 48 horas. Londrina, 2023.

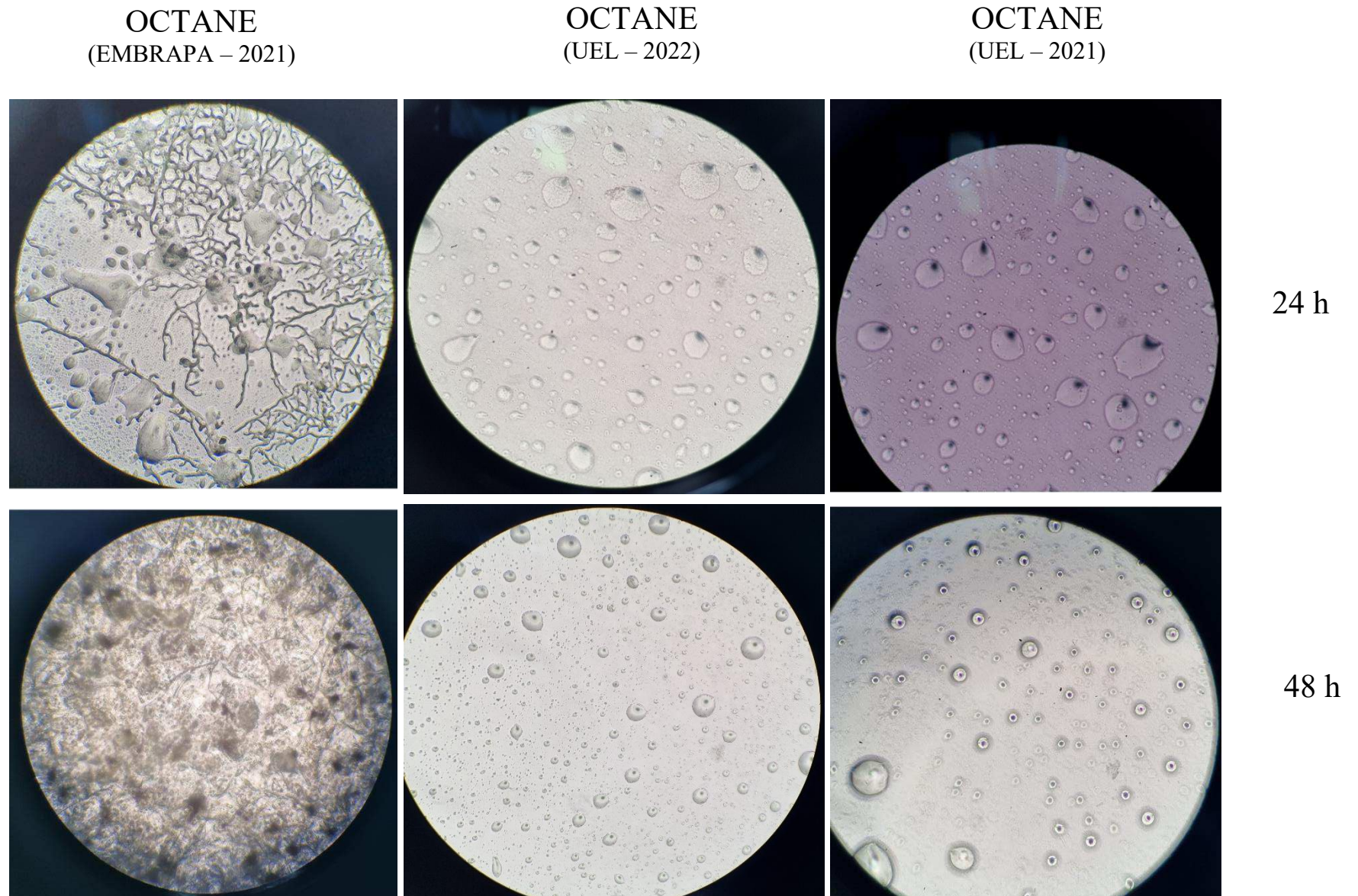
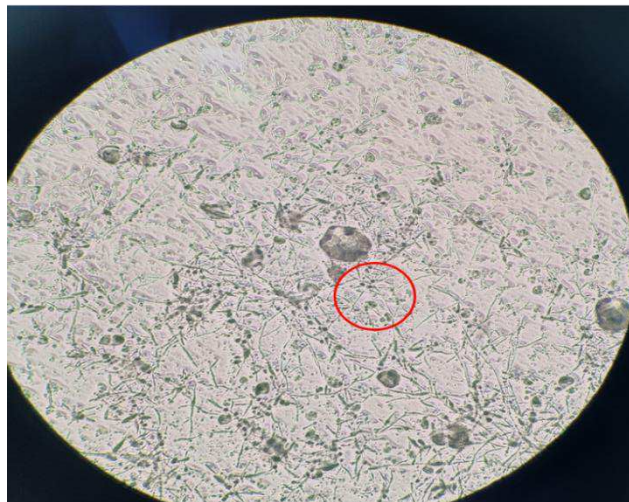
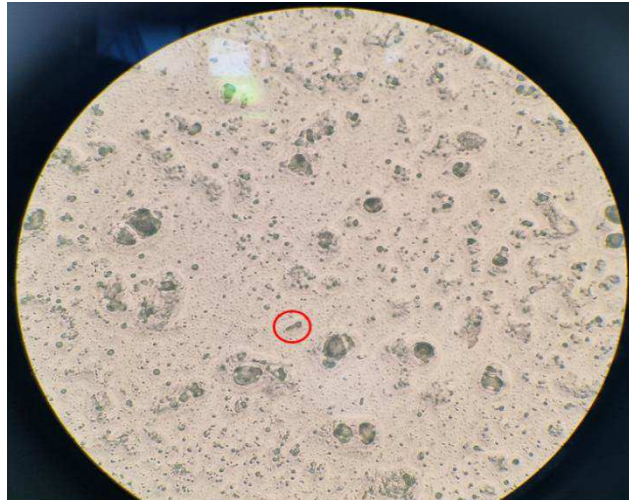
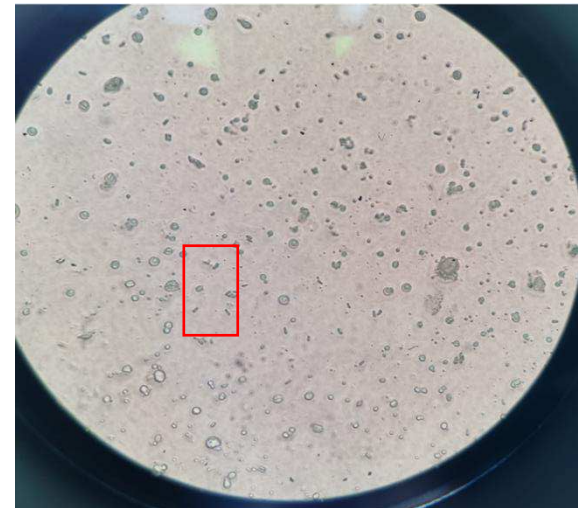


Figura 6 Verificação da viabilidade do produto Metarril e Boveril através do teste de germinação de esporos em lâmina de vidro contendo meio de cultura BDA, avaliados após 24 e 48 horas. Londrina, 2023.

BOVERIL
(UEL – 2022)



METARRIL
(UEL – 2022)



24h

48h

5 CONCLUSÃO

- De maneira geral, o produto biológico *Beauveria bassiana* causou mortalidade acima da testemunha nos experimentos conduzidos.

- Sob determinadas condições, o uso dos componentes misturados à formulação de *B. bassiana* (dióxido de Si + Ca biogênico; Quitosana), pode incrementar a eficiência do fungo, na mortalidade do psilídeo.

- A formulação contendo *Isaria fumosorosea*, apesar dos esporos estarem inviáveis, aumentou a mortalidade do psilídeo quando associadas a adjuvantes.

- Testes de viabilidade de produtos biológicos devem ser realizados antes de realizar os estudos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, PATRÍCIA F.; BUSSULO, JÉSSICA R.; CARPI, JOÃO M. G.; PEREIRA, ISABELLA B. T.; YAMAMOTO, KARIYN. **CITRINO – Indústria de suco de laranja integral**. 2018. 149 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2018.
- ARANAZ, I.; ALCÁNTARA, A.R.; CIVERA, M.C.; ARIAS, C.; ELORZA, B.; HERAS CABALLERO, A.; ACOSTA, N. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. **Polymers**, v. 13, p. 3256, 2021.
- ARÉVALO ROJAS, V. M. **Caracterização do fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosea* quanto à produção de conídios, efeitos da radiação ultravioleta-B, temperatura alta e persistência em formulações do tipo dispersão oleosa**. 2015. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.
- ARNOSTI, A., DELALIBERA JUNIOR, I., CONCESCHI, M. R., D’ALESSANDRO, C. P., TRAVAGLINI, R. V., CAMARGO-MATHIAS, M. I. Interactions of adjuvants on adhesion and germination of *Isaria fumosorosea* on adults of *Diaphorina citri*. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 6, p. 487-493, 2019.
- ATWAL, A. S., J. P. CHAUDHARY, AND M. RAMZAN. Studies on the development and field population of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Psyllidae: Homoptera). **Journal of research: Punjab Agricultural University**, v. 7, p. 333- 338, 1968.
- AUSIQUE, J. J. S. **Desenvolvimento de estratégias para incorporação de fungos entomopatogênicos no manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) na cultura dos citros**. 2014. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- AZEVEDO, C. L. L. **Sistema de Produção de Citros para o Nordeste - Sistema de Produção**, 16, 2003. (Sistema de Produção versão eletrônica).
- BARBOSA, L. R.; CASTRO, B. M. de C.; SOLIMAN, E. P.; WILCKEN, C. F.; IEDE, E. T.; ZANUNCIO, J. C. Controle biológico no MIP florestal. Em: LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C. (ed.). **Novo manual de pragas florestais brasileiras**. Montes Claros: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, p. 147-163. 2021.
- BATEMAN, R.P.; CAREY, M.; MOORE, D.; PRIOR, C. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 122, p. 145-152, 1993.
- BATEMAN, R.P.; MATHEWS, G.A.; HALL, F.R. Ground-based application equipment. In: LACEY, LA.; KAYA, H.K. **Field manual of techniques in invertebrate pathology**. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 73-98, 2007.
- BEATTIE, G.A.C. Hosts of the Asian citrus psyllid. In: QURESHI, J.A., STANSLY, P.A. **Asian Citrus Psyllid: Biology, Ecology and Management of the Huanglongbing Vector**. CABI Digital Library: London, UK, p. 67–86, 2020.

BRAGA, G. U. L.; RANGEL, D. E. N.; FERNANDES, E. K. K.; FLINT, S. D.; ROBERTS, D. W. Molecular and physiological effects of environmental UV radiation on fungal conidia. **Current Genetics**, v. 61, n. 3, p. 405-425, 2015.

BRAGA, G.U.; FLINT, S.D.; MILLER, C.D.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. Both solar UVA and UVB radiation impair conidial culturability and delay germination in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Photochemistry and Photobiology**, Amsterdam, v.74, n.5, p.734-739, 2001.

BURCKHARDT, D., OUVRARD, D., QUEIROZ, D., PERCY D. Psyllid host-plants (HEMIPTERA: PSYLLOIDEA): resolving a semantic problem. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 1, 2014.

CAGÁN, L.; SVERCEL, M. The influence of ultraviolet light on pathogenicity of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin to the European corn borer, *Ostrinia Nubilalis* Hbn. (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Central European Agriculture**, Zagreb, v.2, n.3-4, p.228-232, 2001.

CAMARGO, J. M. M.; Moraes, J. C.; Zanol, K. M. R., Queiroz, D. S. L. de. Interação silício e insetos-praga: Defesa mecânica ou química?. **Revista de Agricultura** (Piracicaba), v. 85, p. 10-12, 2011.

CAMPBELL, C.L. & L.V. MADDEN. **Introduction to plant disease epidemiology**. John Wiley & Sons, New York, 1990.

CARMO-SOUSA, M., GARCIA, R. B., WULFF, N. A., FERERES, A., MIRANDA, M.P. Drench Application of Systemic Insecticides Disrupts Probing Behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and Inoculation of *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Insects**, v. 11, n. 5, p. 314, 2020.

CONCESCHI, M. R. **Potencialidade dos fungos entomopatogênicos *Isaria fumosorosea* e *Beauveria bassiana* para o controle de pragas dos citros**. 2013. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

CONCESCHI, M. R.; D’ALESSANDRO, C. P.; MORAL, R. de A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; JÚNIOR, I. D. Transmission potential of the entomopathogenic fungi *Isaria fumosorosea* and *Beauveria bassiana* from sporulated cadavers of *Diaphorina citri* and *Toxoptera citricida* to uninfected *D. citri* adults. **BioControl (Dordrecht)**, v. 61, p. 567-577, 2016.

COOMBES, C. A.; HILL, M. P.; MOORE, S. D.; DAMES, J. F. Entomopathogenic fungi as control agents of *Thaumatotibia leucotreta* in citrus orchards: field efficacy and persistence. **Biological Control**, v. 61, n. 4, 2016.

COPPING, L.G. The manual of biocontrol agents. 3 rd ed. **Hampshire: BCPC Publ.**, 896 p., 2004.

CORREIA GUERRERO, C., CARRASCO DE BRITO, J., LAPA, N., SANTOS OLIVEIRA, J.F. Re-use of industrial orange wastes as organic fertilizers. **Bioresource Technology**, v. 53, n. 1, p. 43-51, 1995.

COSTA LIMA AM. da. **Homopteros. Insetos do Brazil**. Escola Nacional de Agronomia Ministério da Agricultura, v. 3, p. 1-327, 1942.

COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; MCDERMOTT, A. M.; RAMOUTAR, D. “Inert” Formulation Ingredients with Activity: Toxicity of Trisiloxane Surfactant Solutions to Twospotted Spider Mites (Acari: Tetranychidae), **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 180–188, 2000.

DALASTRA, I. M.; PIO, R.; ENTELMANN, F. A.; WERLE, T.; ULIANA M.B.; SCARPARE J.A.F. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE NOGUEIRA-MACADÂMIA SUBMETIDAS À INCISÃO E EMBEBIÇÃO EM ÁCIDO GIBERÉLICO. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 34, p. 641-645, 2010.

DELLA VECHIA, J. F. **Interação entre produtos fitossanitários no manejo de *Brevipalpus yothersi* e *Diaphorina citri* na cultura dos citros**. Jaboticabal, 2017. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017.

DONADIO, L. C.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; MOREIRA, C. S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Org.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico: Fundag, 2005. p. 1-18.

DONGARE, S. K.; GAIKWAD, P. M.; PAWAR, S. S.; KHYADE, V. B. The Quality of the Cocoons of Spinned by the Larval Instars of *Bombyx mori* (L) (Race: PM x CSR2) Inoculated with *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. **International Journal of Scientific Research in Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 1137 – 1141, 2018.

EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA. **Base de dados**. 2021. Disponível em: < https://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/laranja/b1_laranja.pdf >.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (EPPO). ***Diaphorina citri***. 2022. Disponível em: < <https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI> >.

FARIA, M. R., WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A Comprehensive List with Worldwide Coverage and International Classification of Formulation Types. **Biological Control**, v. 43, p. 237-256, 2007.

FARIA, M.; LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; WRAIGHT, S. P. Conidial vigor vs. Viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 125, p. 68-72, 2015.

FERNANDES, E.K.; RANGEL, D.E.; MORAES, A.M.; BITTENCOURT, V.R.; ROBERTS, D.W. Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria* spp. isolates. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.96, n.3, p.237-243, 2007.

FERREIRA PINTO, A.P., A. BATISTA FILHO, J.E.M. ALMEIDA; I.M. WENZEL. *Beauveria bassiana* pathogenicity to *Diaphorina citri* and compatibility of the fungus with phytosanitary products. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1673– 1680, 2012.

FIDÉLIX, M., MILENKOVIC, D., SIVIERI, K., CESAR, T. Microbiota modulation and effects on metabolic biomarkers by orange juice: a controlled clinical trial. **Food Function**, v. 11, p. 1599-1610, 2020.

FONTES, E. M. G.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R. Estratégias de uso e Histórico. Em: FONTES, E. M. G.; VALADARES INGLIS, M. C. **Controle Biológico de Pragas da agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020.

FRENCH, J. V., KAHLKE, C. J., GRAÇA, J. V. da. First Record of the Asian Citrus Psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera:Psyllidae), in Texas. **Subtropical Plant Science**, v. 53, p. 14-15, 2001.

FUNDECITRUS (Fundo de Defesa da Citricultura). Greening: o desafio continua e exige mais esforços. **Revista Citricultor**, ed. 58, 2022a. Disponível em: < https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/revista_detalhes/revista-citricultor---edicao-58/78 >.

FUNDECITRUS (Fundo de Defesa da Citricultura). **Home | Comunicação | Notícias | É lançado o primeiro bioinseticida para o controle do vetor do greening**. 2017. Disponível em: < <https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/e-lancado-o-primeiro-bioinseticida-para-o-controle-do-vetor-do-greening/629> >.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GATARAYIHA, M. C.; LAING, M. D.; MILLER, R. M. Combining applications of potassium silicate and *Beauveria bassiana* to four crops to control two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, **International Journal of Pest Management**, v. 56, n. 4, p. 291-297, 2010.

GAUR, S.; KUMAR, J.; KUMAR, D.; CHAUHAN, D. K.; PRASAD, S. M.; SRIVASTAVA, P. K. Fascinating impact of silicon and silicon transporters in plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 202, 2020.

GHAZANFAR, M. U., RAZA, W., WAKIL, W., HUSSAIN, I., & QAMAR, M. I. Management of late blight and sucking insect pests of potato with application of salicylic acid and β -aminobutyric acid under greenhouse conditions. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 36, n. 2, p. 646-654, 2020.

GHORMADE, V.; PATHAN, E. K.; DESHPANDE, M. V. Can fungi compete with marine sources for chitosan production?. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, part. B, p. 1415-1421, 2017.

GRAFTON CARDWELL, E. E.; DAUGHERTY, M. P. Asian Citrus Psyllid and Huanglongbing Disease: Integrated Pest Management for Home Gardeners and Landscape Professionals. **University of California: Agriculture and Natural Resources**. Pest Notes, Publication 74155. 2018

HAAPALAINEN, M. Biology and epidemics of Candidatus *Liberibacter* species, psyllidtransmitted plant-pathogenic bacteria. **Annals of Applied Biology**, v. 165, p. 172-198, 2014.

HALBERT, S. E.; C. A. NÚÑEZ. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchotha: Psyllidae) in the Caribbean basin. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 3, p. 401-402, 2004.

HALBERT, S. E.; K. L. MANJUNATH. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 3, p. 330-353, 2004.

HALL, D. G. Biology, history and world status of *Diaphorina citri*. **Horticultural Research Laboratory**, 2008.

HALL, D. G., ALBRIGO, L. G. Estimating the Relative Abundance of Flush Shoots in Citrus with Implications on Monitoring Insects Associated with Flush. **Horticultural Science**, v. 42, n. 2, 2007.

HANNIG, G.T.; ZEIGLER, M.; MARCON. P.G. 2009. Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. **Pest Management Science**, v.65, p. 969– 974, 2009.

HOY, M. A., RAGHUWINDER, S., ROGERS, M. E. Evaluations of a Novel Isolate of *Isaria fumosorosea* for Control of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), **Florida Entomologist**, v. 93, n. 1, p. 24-32, 2010.

HUSAIN, M. A., NATH, D. The Citrus Psylla (*Diaphorina Citri*, Kuw.) [Psyllidae: Homoptera]. Agricultural research institute, PUSA. **Entomological Series**, v. 10, n. 2, 1927.

IBARRA-CORTES, K.H., A.W. GUZMAN-FRANCO, H. GONZALEZ-HERNANDEZ, L.D. ORTEGA-ARENAS, J.A. VILLANUEVA-JIMENEZ; A. ROBLES-BERMUDEZ. Susceptibility of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) to entomopathogenic fungi under laboratory conditions. **Neotropical Entomology**, 2017.

INGLIS, G. D.; GOETTEL, M. S.; JOHNSON, D. L. Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, Orlando, v.5, n.4, p.581- 590, 1995.

JOSEPH, S. Curry leaf. In: PETER, K.V. **Underutilized & Underexploited Horticultural Crops**, Volume 4. New India Publishing Agency, New Delhi, p. 155–163, 2008.

KELLY M. R., EMERSON D. M., LANDES E. J., BARNES E. R., GALLAGHER P. M. Gastrointestinal Implications of Post-Exercise Orange Juice Consumption. **Journal of Nutrition and Health Sciences**, v. 7, n. 1, p. 101, 2020.

KEPLER, R. M., LUANGSA-ARD, J. J., HYWEL-JONES, N. L., QUANDT, C. A., SUNG, G. H., REHNER, S. A., AIME, M. C., HENKEL, T. W., SANJUAN, T., ZARE, R., CHEN, M., LI, Z., ROSSMAN, A. Y., SPATAFORA, J. W., SHRESTHA, B. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). **IMA fungus**, v. 8, n. 2, 335–353, 2017.

KERIMI, A., GAUER, J. S., CRABBE, S., CHEAH, J. W., LAU, J., WALSH, R., CANCALON, P. F., & WILLIAMSON, G. Effect of the flavonoid hesperidin on glucose and fructose transport, sucrase activity and glycaemic response to orange juice in a crossover trial on healthy volunteers. **The British journal of nutrition**, v. 121, n. 7, p. 782–792, 2019.

KIM, J. S.; LEE, S. J.; LEE, H. B. Enhancing the Thermotolerance of Entomopathogenic *Isaria fumosorosea* SFP-198 Conidial Powder by Controlling the Moisture Content Using Drying and Adjuvants, **Mycobiology**, v. 42, n. 1, p. 59-65, 2014.

KUMARASWAMY, R.V., KUMARI, S., CHOUDHARY, R.C., PAL, A., RALIYA, R., BISWAS, P., SAHARAN, V. Engineered chitosan based nanomaterials: Bioactivities, mechanisms and perspectives in plant protection and growth. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 494–506, 2018.

LAMPORT, D. J., LAWTON, C. L., MERAT, N., JAMSON, H., MYRISSA, K., HOFMAN, D., CHADWICK, H. K., QUADT, F., WIGHTMAN, J. D., & DYE, L. Concord grape juice, cognitive function, and driving performance: a 12-wk, placebo-controlled, randomized crossover trial in mothers of preteen children. **The American journal of clinical nutrition**, v. 103, n. 3, p. 775–783, 2016.

LANZA, L. M., MONTEIRO, A. C., MALHEIROS, E. B. Sensibilidade de *Metarhizium anisopliae* à temperatura e umidade em três tipos de solos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.1, p.6-12, 2009.

LEZAMA-GUTIÉRREZ, R., MOLINA-OCHOA, J., CHÁVEZ-FLORES, O., ÁNGEL-SAHAGÚN, C. A., SKODA, S. R., REYES-MARTÍNEZ, G., ... FOSTER, J. E. Use of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps bassiana* and *Isaria fumosorosea* to control *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Persian lime under field conditions. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 32, p. 39–44, 2012.

LEZAMA-GUTIÉRREZ, R., RAMÍREZ-MANCILLA, A., CASTREJÓN-AGAPITO, H., PERALTA-MANZO, J. J., & REBOLLEDO-DOMÍNGUEZ, O. Uso de *Metarhizium anisopliae* y *Cordyceps bassiana* (Ascomycetes) para el control de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en Limón Mexicano. **Entomología Mexicana**, v. 1, p. 219-224, 2014.

LIMA, Y. C.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Uso da quitosana na agricultura: uma revisão com ênfase na aplicação em sementes. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, 2022.

LIN, Y., LIN, X., DING, C., XIA, M., XUE, R., SUN, Z., ... & SONG, Y. Priming of rice defense against a sap-sucking insect pest brown planthopper by silicon. **Journal of Pest Science**, v. 95, n. 3, p. 1371-1385, 2022.

LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; DOORN, T. van; HONG, S.-B.; BORMAN, A. M.; HYWEL-JONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 321, n. 2, p. 141-149, 2011.

LUZ, C., ROCHA, L. F. N., MONTALVA, C., SOUZA, D. A., BOTELHO, A. B. R. Z., LOPES, R. B., FARIA, M., & DELALIBERA, I., JÚNIOR. *Metarhizium humberi* sp. nov. (Hypocreales: Clavicipitaceae), a new member of the PARB clade in the *Metarhizium*

anisopliae complex from Latin America. **Journal of invertebrate pathology**, v. 166, 107216, 2019.

MAJEED, M.Z., FIAZ, M., CHUNSEN, M., & AFZAL, M. Entomopathogenicity of three muscardine fungi, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae*, against the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 27, p. 211-215, 2017.

MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Org.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico: Fundag, 2005.

MEAD, F.W. The Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Entomology Circular 180**. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. 4 p, 1977.

MEYER, J. M., HOY, M. A., BOUCIAS, D. G. Isolation and characterization of an *Isaria fumosorosea* isolate infecting the Asian citrus psyllid in Florida. **Journal of invertebrate pathology**, v. 99, n. 1, p. 96–102, 2008.

MIRANDA, M. P. de. **Manual de Psilídeo *Diaphorina citri*: medidas essenciais de controle**. Araraquara: Fundecitrus, ed. 2, 19 p., 2022.

MONTES, R. M.; MONTES, S. M. N. M.; RAGA, A. **O uso do silício no manejo de pragas**. São Paulo: Instituto Biológico (Documento Técnico, 017). 2015.

MOORE, D.; HIGGINS, P.M.; LOMER, C.J. Effects of simulated and natural sunlight on the germination of conidia of *Metarhizium flavoviride* Gams and Rozsypal and interactions with temperature. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 6, p. 63-76, 1996.

NAVA, D. E. Manejo de pragas. In: OLIVEIRA, R. P. de; SCIVITTARO, W. B.; MIGLIORINI, L. C.; SIMCH, R. L. **Tecnologias para produção de citros na propriedade de base familiar**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 70 p., 2012.

NITSCHKE, P. R.; CARAMORI, P. H.; RICCE, W. da S.; PINTO, L. F. D. **Atlas Climático do Estado do Paraná**. Londrina, PR: IAPAR, 2019.

NUNES COSMO, B. M., GALERIANI, T. M. Pragas dos citros: cochonilhas, pulgões, minador dos citros, cigarrinhas, bicho furão e mosca branca dos citros. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 4, 2020.

OMOTO, C. Modo de ação dos inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Ed.). **Bases e técnicas de manejo de insetos**. Universidade Federal de Santa Maria, Sta. Maria, RS., p. 30-49, 2000.

PADULLA, L. F. L.; ALVES, S. B. Suscetibilidade de ninfas de *Diaphorina citri* a fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 297-302, 2021.

PALMA-GUERRERO, J., LARRIBA, E., GÜERRI-AGULLÓ, B., JANSSON, H. B., SALINAS, J., & LOPEZ-LLORCA, L. V. Chitosan increases conidiation in fungal pathogens of invertebrates. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 87, n. 6, p. 2237–2245, 2010.

PELZ-STELINSKI, K. S. Symbionts and Pathogens of the Asian Citrus Psyllid. In: QURESHI, J. A., STANSLY, P. A. **Asian Citrus Psyllid Biology, Ecology and Management of the Huanglongbing Vector**. CAB International, 2020.

PIETERSEN, G., ARREBOLA, E., BREYTENBACH, J., KORSTEN, L., LE ROUX, H.F., LA GRANGE, H., LOPES, S., MEYER, J.B., PRETORIUS, M., SCHWERDTFEGER, M. A survey for ‘Candidatus Liberibacter’ species in South Africa confirms the presence of only ‘Ca. L. africanus’ in commercial citrus. **Plant Disease**, v. 94, p. 244–249, 2010.

PLUKE, R. W. H., J. A. QURESHI, AND P. A. STANSLY. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. **Florida Entomologist**. v. 91, p. 36-41, 2008.

PÜNTENER W. **Manual for field trials in plant protection second edition**. Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited, 1981.

PURITSH, G.S. Pesticidal soaps and adjuvants: what are they and how do they work? In: **Lower mainland horticultural improvement association growers short course**, 23., Proceedings, Canadian Mainland: Abbotsford, B.C., p. 53-67, 1981.

QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; BLUMER, S. Morfologia dos citros. In: MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. p.106-122.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2022.

RAMÍREZ-GODOY, A., VERA-HOYOS, M. D. P., JIMÉNEZ-BELTRÁN, N., RESTREPO-DÍAZ, H. Evaluation of Three Commercial Biopesticides for the Reduction of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) Populations, **Horticultural Science**, v. 53, n. 10, p. 1453-1460, 2018.

REHNER, S. A.; BUCKLEY, E. A. *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-alpha sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. **Mycologia**, v. 97, p. 84-98, 2011.

REYNOLDS, O. L.; KEEPING, M. G.; MEYER, J. H. Silicon-agmented resistance of plants to herbivorous insects: a review. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 155, n. 2, p. 171 – 186. 2009.

RIBEIRO, C., DOURADO, G., & CESAR, T. Orange juice allied to a reduced-calorie diet results in weight loss and ameliorates obesity-related biomarkers: A randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 38, p. 13–19, 2017.

RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. (Ed.). Silicon and plant diseases. **Cham: Springer international publishing**, 2015.

SALDARRIAGA AUSIQUE, J.J., D’ALESSANDRO, C.P., CONCESCHI, M.R. et al. Efficacy of entomopathogenic fungi against adult *Diaphorina citri* from laboratory to field applications. **Journal of Pest Science**, v. 90, p. 947–960, 2017.

SATTELLE, D.B.; CORDOVA, D.; CHEEK, T.R. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. *Invertebrate Neuroscience*, **Southampton**, v. 8, p. 107-119, 2008.

SCHNEIDER, S. **Monitoring soil fungal communities and entomopathogenic soil fungi for soil quality assessment and conservation biological control**, 2011.

SHAHRAJABIAN, M.H.; CHASKI, C.; POLYZOS, N.; TZORTZAKIS, N.; PETROPOULOS, S.A. Sustainable Agriculture Systems in Vegetable Production Using Chitin and Chitosan as Plant Biostimulants. **Biomolecules**, v. 11, p. 819, 2021

SHIMIZU, G; MARUBAYASHI, R; GONCALVES, L. **AgroR: Experimental Statistics and Graphics for Agricultural Sciences**. R package version 1.3.0. 2022.

SILVA, C. M. da. **Misturas binárias entre Beauveria bassiana e silicato de potássio para controle de Frankliniella occidentalis (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) apontam seu potencial sinérgico, sob condições de campo**. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas) -- Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2019.

LIU, H., ZHAO, X., GUO, M., LIU, H., ZHENG, Z. Growth and metabolism of Beauveria bassiana spores and mycelia. **BMC Microbiology**, v. 15, n. 267, 2015.

SILVA, I. T., RODRIGUES, F. A., OLIVEIRA, J. R., PEREIRA, S. C., ANDRADE, C. C. L., SILVEIRA, P. R., CONCEIÇÃO, M. M. Wheat resistance to bacterial leaf streak mediated by silicon. **Journal of Phytopathology**, v. 158, p. 253-262, 2010.

SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C. **Citros: do plantio a colheita**. Editora UFV. 2017.

STORM, C.; SCOATES, F.; NUNN, A.; POTIN, O.; DILLON, A. Improving Efficacy of Beauveria bassiana against Stored Grain Beetles with a Synergistic Co-Formulant, **Insects**, v.7, n. 42, 2016.

SUZUKI, A.; KANAOKA, M.; ISOGAI, A.; MURAKOSHI, S.; ICHINOE, M.; TAMURA, S. Bassionalide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from Beauveria bassiana and Verticillium lecanii. **Tetrahedron Letters**, v. 25, p. 2167-2170, 1977.

TEIXEIRA, D., EVEILLARD, S., SIRAND-PUGNET, P., WULFF, A., SAILLARD, C., AYRES, A., BOVÉ, J. The tufB–secE–nusG–rplKAJL–rpoB gene cluster of the liberibacters: sequence comparisons, phylogeny and speciation. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 1414–1421, 2008.

TSAI, J. H., LIU, Y. H. Biology of Diaphorina citri (Homoptera: Psyllidae) on Four Host Plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1721-1725, 2000.

TSAI, J.H., J. J. WANG & Y.H. LIU. Seasonal abundance of the asian citrus psyllid, Diaphorina citri (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. **Florida Entomologist**. v. 85, n. 3, p. 446-45, 2002.

ULLAH, M.I., ARSHAD, M., ABDULLAH, A., KHALID, S., IFTIKHAR, Y., ALI ZAHID, S. M. Use of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana (Hyphomycetes: Moniliales) and Isaria fumosorosea (Hypocreales: Cordycipitaceae) to control Diaphorina citri Kuwayama

(Hemiptera: Liviidae) under laboratory and semi-field conditions. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, p. 75, 2018.

VALADARES INGLIS, M. C.; LOPES, R. B.; FARIA, M. R. Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos. Em: FONTES, E. M. G.; VALADARES INGLIS, M. C. **Controle Biológico de Pragas da agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020.

VERONESE, R. **Oportunidades, demanda regulatória e de pesquisa e uso de adjuvantes siliconados na agricultura**. 2015. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, University of São Paulo, Piracicaba, 2015

VIDAL, M. de F. Produção de laranja na área de atuação do BNB. **Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil**, ano 6, n.198, dez., 2021. (Caderno Setorial Etene)

WANG, C.; LEGER, R. J. ST. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and MAD2 adhesin enables attachment to plants. **Eukaryotic cell**, v. 6, p. 808-816, 2007.

WANG, M., GAO, L., DONG, S., SUN, Y., SHEN, Q., GUO, S. Role of Silicon on Plant-Pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 701, 2017.

XING, K., ZHU, X., PENG, X., QIN, S. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p. 569–588, 2015.

YAMAMOTO, P. T.; FELLIPE, M. R.; SANCHES, A. L.; COELHO, J. H. C.; GARBIM, L. F.; XIMENES, N. L. Eficácia de Inseticidas para o Manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em Citros. **BioAssay**, v. 4, 2009.

YANG, J.S., XIE, Y.J., HE, W. Research Progress on Chemical Modification of Alginate: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 33-39, 2011.

YARAHMADI, F., DINARVAN, N., & FARKHARI, M. Induction of Sugar Beet Resistance to *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Under Field Conditions. **Sugar Tech**, p. 1-6, 2022.

YE, M.; SONGA, Y.; LONGA, J.; WANGA, R.; BAERSON, S. R.; PAN, Z.; ZHU-SALZMAN, K.; XIE, J.; CAI, K.; LUO, S.; ZENGA, R. Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, 2013.

ZHENG, J., ZHOU, Y., LI, S., ZHANG, P., ZHOU, T., XU, D. P., & LI, H. B. Effects and Mechanisms of Fruit and Vegetable Juices on Cardiovascular Diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 3, p. 555, 2017.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, **Biocontrol Science and Technology**, 17:6, 553-596, 2007.