UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

RAQUEL ROSSI RIBEIRO

Beauveria bassiana VUILL. (ASCOMYCETES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO & DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2016

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

RAQUEL ROSSI RIBEIRO

Beauveria bassiana VUILL. (ASCOMYCETES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO & DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO
2016

RAQUEL ROSSI RIBEIRO

Beauveria bassiana VUILL. (ASCOMYCETES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO & DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo de Gouvêa
Co-Orientadores: Profª. Dra. Michele Potrich
Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva

PATO BRANCO
2016

R484b Ribeiro, Raquel Rossi.
Beauveria bassiana Vuill. (Ascomycetes: Clavicipitaceae) sobre Thaumastocoris peregrinus Carpinteiro & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) / Raquel Rossi Ribeiro. -- 2016.
43 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo de Gouvêa
Coorientadora: Profa. Dra. Michele Potrich
Coorientador: Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2016.
Bibliografia: f. 32 – 43.

1. Percevejo (Inseto). 2. Pragas – Controle biológico. 3. Entomologia. 4. Insetos florestais. 5. Fungos entomopatogênicos. I. Gouvêa, Alfredo de, orient. II. Potrich, Michele, coorient. III. Silva, Everton Ricardi Lozano da, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco

Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia

TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n.º 138

Beauveria bassiana Vuill. (Ascomycetes: Clavicipitaceae) sobre Thaumastocoris peregrinus Carpinteiro & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae)

Por

Raquel Rossi Ribeiro

Dissertação apresentada às oito horas e trinta minutos do dia vinte e três de maio de dois mil e dezesseis, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Dr. Leonardo Rodrigues Barbosa
EMBRAPA

Prof.ª Dr.ª Michele Potrich
UTFPR/Dois Vizinhos

Prof. Dr. Alfredo de Gouvêa
UTFPR/Dois Vizinhos
Orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Giovani Beni
Coordenador do PPGA

*O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do PPGAG

A todas as pessoas que lutam por uma sociedade mais justa, solidária e pautada pela ética que respeitam a natureza e seus processos naturais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sabedoria, proteção diária e pela força espiritual em todos os momentos.

Aos meus pais Assunta e Sebastião, por acreditarem em mim, pelo exemplo e por nos ensinarem os valores mais preciosos, HONESTIDADE e RESPEITO. Aos meus irmãos Ronaldo e Robson pelos agradáveis momentos compartilhados. Ao nosso mais novo amor Samuel, que veio para alegrar ainda mais os nossos dias. Obrigada por tudo. Amo vocês!

Ao meu estimado Orientador Prof. Dr. Alfredo de Gouvea, pela orientação, apoio e confiança.

Ao meus Co- Orientadores Prof. Dra. Michele Potrich e Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva, por todo empenho, dedicação, sabedoria compartilhada, compreensão, orientação, ensinamentos, pela amizade, pelos cafés e risadas e, acima de tudo pela confiança depositada em mim, por sempre estarem a disposição em todos os momentos em que precisei, neste momento me faltam palavras para expressar a minha gratidão a vocês. Vocês são fantásticos e admiráveis. MUITÍSSIMO OBRIGADA!

Ao meu amigo e companheiro Jhony A. Luchmann, pela paciência, por toda ajuda, compreensão nos momentos de ausência, pela calma nos meus momentos desespero, pelo carinho dos abraços aconchegantes e reconfortantes e pelo apoio dedicados a mim sem medida. Obrigada! Te amo!

Aos meus colegas de caminhada de Mestrado Nilson, Cristiano, Vanessa e Juliana pela agradável companhia nas idas a Pato Branco. Agradeço em especial a minha amiga Karina pela amizade, pela força e pelos tantos momentos de conversas, mates e cafés divididos durante o período de graduação e mestrado.

Aos colegas e amigos do laboratório de Controle Biológico pela dedicação, risadas, companheirismo e ajuda de vocês foi essencial para a realização deste trabalho, Carla, Aline, Flávia, Sidinei, Rodrigo, Fernanda, Igor, Jacke, e estendo os mais sinceros agradecimentos aos estagiários e estagiárias do curso de Ciências Biológicas. Desejo todo o sucesso do mundo a vocês, o comprometimento e responsabilidade de vocês é admirável.

Ao CAPA, pela oportunidade de trabalho ao ingressar no mestrado e continuidade desta etapa de formação, em especial a Equipe e Coordenação pela compreensão nos momentos de ausência do trabalho e pela agradável convivência e amizade. Que este trabalho venha a somar na nossa luta diária por um mundo melhor, com mais agroecologia e Comida Boa na Mesa!!

Agradeço de forma especial e carinhosa a queridíssima Fernanda Colombo pela ajuda na histologia, sua dedicação e comprometimento te levarão ao sucesso.

À Prof. Dra. Patrícia Franchi de Freitas, pelas dicas, sugestões e ajuda sem medida nas análises histológicas.

Enfim, a todos e todas que de uma forma ou outra colaboraram para a realização deste trabalho o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

RIBEIRO, Raquel Rossi. *Beauveria bassiana* Vuill. (Ascomycetes: Clavicipitaceae) sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) 43 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.

O percevejo-bronzeado do eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus*, é um inseto fitófago que ocasiona o amarelecimento das folhas de *Eucalyptus* e, em casos severos, a desfolha e morte das plantas. Buscam-se formas de controle natural e/ou biológico para o controle deste inseto. Nesta perspectiva, o controle biológico vem ganhando espaço e o emprego de fungos entomopatogênicos torna-se viável, uma vez que já ocorre naturalmente no ambiente. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a ação do fungo entomopatogênico *B. bassiana*, isolado IBCB 66 sobre diferentes fases de desenvolvimento de *T. peregrinus*, em condições de laboratório. Os tratamentos foram: Água destilada esterilizada (ADE), Água destilada esterilizada + Tween® 80 (0,01%) (ADET) e *B. bassiana* isolado IBCB 66 ($1,0 \times 10^8$ conídios. mL^{-1}). Esses tratamentos foram avaliados em três bioensaios em delineamento inteiramente casualizado. 1- Ação de *B. bassiana* sobre ovos de *T. peregrinus*: Folhas de *Eucalyptus benthamii* foram recortadas em discos de 2,4cm Ø, alocados no interior de tubos de vidro chato (2,5cm Ø e 10 cm h). Cartelas contendo em média 10 ovos de *T. peregrinus* foram imersas na solução correspondente a cada tratamento e colocadas sobre os discos foliares, totalizando 20 repetições/tratamento, sendo mantidos em câmara climatizada BOD (27±2° C, 14 h de fotofase e UR de 70 ± 10%) (procedimento padrão para todos os bioensaios). Foram avaliados o período de incubação e a viabilidade dos ovos de *T. peregrinus*. 2- Ação de *B. bassiana* sobre ninfas de *T. peregrinus*: Discos de *E. benthamii* de 2,4cm Ø, previamente tratados foram alocados no interior de tubos de vidro que recebeu, na sequência, uma ninfa de 3° ínstar de *T. peregrinus*, totalizando 50 tubos/repetições por tratamento. Neste bioensaio foram avaliadas a duração e a viabilidade dos ínstares ninfais. 3- Ação de *B. bassiana* sobre adultos de *T. peregrinus*: este bioensaio foi realizado conforme metodologia descrita para ninfas. Cada tubo de vidro recebeu um adulto de *T. peregrinus*, totalizando 50 tubos/repetições por tratamento. Neste bioensaio foi avaliada a longevidade diariamente, até a mortalidade total dos insetos. Alguns exemplares de adultos mortos que entraram em contato com *B. bassiana* foram coletados, para análise histológica, conforme metodologia padrão. O fungo *B. bassiana* não interferiu no período de incubação e viabilidade de ovos de *T. peregrinus*. O mesmo foi observado sobre ninfas de 3° ínstar e adultos, que não foram afetados pelo fungo. A duração média e a viabilidade foram reduzidas em ninfas de 4° e 5° ínstar, demonstrando que o fungo *B. bassiana* é patogênico nessa fase de desenvolvimento. Na análise histológica de adultos de *T. peregrinus* verificou-se a presença de hifas, conídios e conidióforos nos tecidos do sistema digestivo e muscular.

Palavras-chave: Percevejo bronzeado do eucalipto. Fungo entomopatogênico. Controle biológico. Entomologia Florestal.

ABSTRACT

RIBEIRO, Raquel Rossi. *Beauveria bassiana* Vuill. (Ascomycetes: Clavicipitaceae) on *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) 43 f. Dissertation (MSc in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Crop). Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2016.

The bronze bug of eucalyptus, *Thaumastocoris peregrinus*, is a phytophagous insect that causes yellowness of leaves of *Eucalyptus*, and in severe cases, death, and defoliation of plants. Forms of natural control and/or biological control for this insect are aimed. In this perspective, biological control has been increasing and the use of entomopathogenic fungi is feasible, as already occurs naturally in the environment. In this sense, it aimed to evaluate the action of entomopathogenic fungus *B. bassiana*, isolated IBCB 66 on different developmental stages of *T. peregrinus* in laboratory conditions. The treatments were: sterilized distilled water (SDW), Distilled water Tween 80 (0.01%) (DWT) and *B. bassiana* IBCB 66 (1.0×10^8 conidia mL^{-1}). These treatments were evaluated in three bioassays in experimental design. 1: *B. bassiana* action on eggs of *T. peregrinus*: *Eucalyptus benthamii* leaves were cut into disks of 2.4 cm Ø, allocated within flat glass tubes (2.5 cm Ø and 10 cm h). Cards containing on average 10 eggs of *T. peregrinus* were immersed in the solution corresponding to each treatment and placed on leaf discs a total of 20 replications / treatment, and kept in a climatized chamber BOD (27 ± 2 ° C, 14 h photoperiod and RH 70 ± 10%) (standard procedure for all bioassays). They evaluated the incubation period and the viability of *T. peregrinus* eggs. 2: *B. bassiana* action on nymphs of *T. peregrinus*: *E. benthamii* discs of 2.4 cm Ø, pretreated were placed inside glass tubes that received following a nymph 3° instar *T. peregrinus* totaling 50 tubes / replications. In this bioassay were evaluated duration and viability of the nymphal instars. 3: *B. bassiana* action on adults of *T. peregrinus*: This bioassay was performed as described methodology for nymphs. Each glass tube received an adult *T. peregrinus*, totaling 50 tubes / replications per treatment. In this bioassay was assessed daily longevity to the total mortality of insects. Some adult specimens dead who came into contact with *B. bassiana* were collected for histologic analysis as standard methodology. *B. bassiana* did not affect the incubation period and viability of eggs of *T. peregrinus*. The same was observed on nymphs of 3° instar and adults who have not had the studied biological parameters affected by the fungus. The average duration and viability were reduced by 4 ° to 5 ° instar nymphs , indicating that the pathogen is *B. bassiana* this development phase. Histological examination of the adults of *T. peregrinus* verified the presence of hyphae, conidia and conidiophores in the digestive system and muscle tissues.

Keywords: Bronze bug of eucalyptus, Entomopathogenic fungi, biological control, forest entomology

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Duração média (dias) de ninfas e adultos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) submetidos aos diferentes tratamentos, (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.....20

Figura 2: A- Ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) que foram submetidas ao tratamento com *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae); B: Extrusão do fungo *B. bassiana* sobre *T. peregrinus* (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.....23

Figura 3: Curvas de sobrevivência estimadas pelo método de comparações pareadas, pelo teste Log-Rank, para ninfas de 4° e 5°ínstar de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), submetidos aos diferentes tratamentos , (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016. 21

Figura 4: A e B: Análise histológica de tecidos de adultos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridade) que tiveram contato com o tratamento Água destilada Esterilizada; C, D, E e F: Adultos de *T. peregrinus* que entraram em contato com o tratamento *Beauveria bassiana* IBCB 66 (Ascomycetes: Clavicipitaceae). a) musculatura sem deformações; b) núcleo da célula; c) musculatura da asa; d) reto; e) intestino médio; f) conídios de *B. bassiana* na musculatura; g) rompimento da cutícula; h) hifa de *B. bassiana*; i) conídios de *B. bassiana* na parte externa; j) conidióforo de *B. bassiana*.....25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Período médio de incubação (horas) (± EP), número total de ovos, número de ovos com eclosão das ninfas e viabilidade (%) dos ovos de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae), nos diferentes tratamentos, (26 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016. 19

Tabela 2: Duração Média (D) em horas (h) (± EP), dias (d) e Viabilidade (V) (%), dos ínstares ninfais de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) submetidos aos diferentes tratamentos, (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016. 22

Tabela 3: Longevidade em horas e dias (± EP), dos adultos de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) submetidos aos diferentes tratamentos, (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016. 23

LISTA DE SIGLAS

ABRAF	Associação Brasileira de Florestas Plantadas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IPEF	Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais
°C	graus Célsius
g	gramas
h	Horas
mL	Mililitro
H/E	Hematoxilina/ Eosina
µm	Micrometro
cm	centímetro
U.R	Umidade relativa
UTFPR/DV	Universidade Tecnológica Federal do Paraná/ Dois Vizinhos
BOD	Demanda Biológica de Oxigênio
CAPA	Centro de Apoio e Promoção da Agroecologia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 4

2 AÇÃO DE *Beauveria bassiana* VUILL. (ASCOMYCETES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO & DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE) 12

2.1 INTRODUÇÃO 12

2.2 MATERIAL E MÉTODOS 14

2.2.1 Ação de *B. bassiana* sobre ovos de *T. peregrinus* 15

2.2.2 Ação de *B. bassiana* sobre ninfas de *T. peregrinus* 16

2.2.3 Ação de *B. bassiana* sobre adultos de *T. peregrinus* 16

2.2.4 Análise Histológica de adultos de *T. peregrinus* 17

2.3 RESULTADOS 19

2.3.1 Ação de *B. bassiana* sobre ovos de *T. peregrinus* 19

2.3.2 Ação de *B. bassiana* sobre ninfas e adultos de *T. peregrinus* 20

2.3.3 Análise Histológica de adultos de *T. peregrinus* 24

2.4 DISCUSSÃO 26

2.5 CONCLUSÕES 31

3. REFERÊNCIAS 32

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, nativos da Austrália e Oceania, possuem mais de 700 espécies (QUEIROZ et al., 2009), sendo importantes na economia mundial. Essa importância está relacionada às diversas características desejáveis para a silvicultura, dentre elas o rápido crescimento, ciclos curtos e longos de rotação, dependendo da finalidade (ciclo curto com corte raso entre o 6° e 9° ano, ciclos longos até 40 anos) com produção em grande escala (grandes extensões de terra), adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas, fácil manejo, aplicabilidade da sua madeira para diversos fins, dentre outros (RIBEIRO et al., 2013).

No Brasil, o gênero florestal mais utilizado nos programas de reflorestamento é o *Eucalyptus*, ocupando cerca de 7,1 milhões de hectares, aproximadamente 76,6% da área de florestas plantadas do país, estando localizados, principalmente, nos estados de Minas Gerais (25,2%), São Paulo (17,6%) e Mato Grosso do Sul (14,5%) (ABRAF, 2013; IBÁ, 2015). Contudo, a condução de florestas homogêneas para fins comerciais em grandes extensões de terra requer conhecimento quanto aos principais insetos-praga que podem atacar a mesma (CARRANO-MOREIRA, 2014).

Os plantios florestais são constituídos, em sua maioria, por monoculturas e cultivados por longos períodos, favorecendo o ataque de insetos que podem se tornar pragas. As empresas e silvicultores que fazem plantio de florestas homogêneas devem ter conhecimento dos principais insetos-praga, formas de monitoramento, períodos vulneráveis, ou seja, épocas do ano com as condições de clima que podem favorecer o surto de insetos (CARRANO-MOREIRA, 2014).

É notável o crescente aumento de espécies de insetos que passaram a se adaptar a essa cultura à medida que os reflorestamentos se expandiram, com relatos de ocorrência de coleobrocas *Phoracantha recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) em *Corymbia citriodora* (WILCKEN et al., 2002), psilídeos: *Ctenarytaina spatulata* Taylor (Hemiptera: Psyllidae) em *Eucalyptus grandis* (SANTANA et al., 2005), *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) em *Eucalyptus camaldulensis,* clones híbridos de *E. grandis* x *Eucalyptus urophylla* (WILCKEN et al., 2003), *Eulayptus tereticornis* (LUTINSKI et al., 2006) híbridos de *E. camaldulensis* x *E. grandis* e *E. urophylla* x *E. grandis* (MASSON et al., 2009), *E. camaldulensis* e *C. citriodora* (BREDA et al., 2010), cigarrinhas: *Aethalion reticulatum* Linnaeus (Hemiptera: Aethalionidae) e *Membracis luneta* Fabricius (Hemiptera:

Membracidae) em *Eucalyptus cloeziana* (MENEZES et al., 2012). Além disso, muitos insetos de ocorrência natural em espécies de mirtáceas nativas passaram a se adaptar e utilizar o eucalipto como fonte de alimento (HOLTZ et al., 2003; ANJOS, 2004; MENEZES et al., 2012).

No que se refere aos insetos exóticos a diminuição da diversidade e inexistência, em alguns casos, de inimigos naturais favoreceu os surtos populacionais de insetos-praga (SANTOS et al., 2002; BARBOSA et al., 2010a; BARBOSA et al., 2012a). Também é importante salientar que o constante deslocamento de pessoas e produtos do comércio mundial favoreceram a introdução de organismos em novos ambientes (MEYERSON; MOONEY, 2007).

Dentre os insetos nativos da Austrália, introduzidos no Brasil, e que passaram a ser encontrados com certa frequência nas florestas plantadas tem-se: o bicudo-australiano (*Gonipterus gibberus* Boisduval) e os gorgulhos-do-eucalipto (*Gonipterus scutellatus* Gyllenhal, *Gonipterus platensis* Marellie, *Gonipterus pulverulentus* Lea) que são da ordem Coleoptera, família Curculionidae. Também se destacam as brocas-do-eucalipto *Proracantha semipunctata* Fabricius e *Proracantha recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae), a vespa-da-galha *Leptocybe invasa* Fisher; LaSalle (Hymenoptera: Euliphidae), o psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) e o percevejo-bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero; Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), que se disseminaram causando danos diretos e indiretos ao eucalipto, aumentando os custos de produção nos principais estados produtores de eucalipto no Brasil (WILCKEN et al., 2002; WILCKEN et al., 2003; WILCKEN et al., 2008a; WILCKEN et al., 2008b; WILCKEN et al., 2010; BARBOSA et al., 2010a).

A ocorrência de *T. peregrinus* já foi registrada na África do Sul (JACOBS; NESER, 2005), Argentina (CARPINTEIRO; DELLAPÉ, 2006; NOACK; COVILELLA, 2006), Uruguai (MARTINEZ; BIANCHI, 2010), Zimbábue, Malaui (NADEL et al., 2010), Chile (IDE et al., 2011), Quênia (NOACK; CASSIS, ROSE, 2011), Itália (LAUDONIA; SASSO, 2012), Nova Zelândia (SOPOW et al., 2012) e Portugal (GARCIA et al., 2013), adaptando-se a diferentes espécies de eucaliptos e clones híbridos de eucalipto plantados nesses países.

No Brasil, a ocorrência de *T. peregrinus* foi registrada pela primeira vez em 2008, no município de São Francisco de Assis, no estado do Rio Grande do Sul e, posteriormente, no estado de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul (WILCKEN et al., 2010), Bahia (LIMA et al., 2010), Paraná (BARBOSA et al., 2010b), Santa

Catarina (SAVARIS et al., 2011), Goiás (PEREIRA et al., 2013) e Sergipe (RIBEIRO et al., 2015).

Na região Sudoeste do estado do Paraná, a primeira ocorrência foi registrada no município de Realeza, no ano de 2012, com observação de ataque em *E. camaldulensis* (LORENCETTI et al., 2015). Acredita-se que a disseminação desse inseto tenha ocorrido naturalmente pelas fronteiras dos países vizinhos, através de correntes de ar ou mesmo pelo transporte de produtos florestais como lenha, madeira, folhas, galhos, aderidos a troncos de árvores, dentre outros (NOACK; COVIELLA 2006; IPEF, 2010; MONTEMAYOR; DELLAPÉ, MELO, 2015).

Montemayor, Dellapé e Melo (2015) estimaram a partir de modelos matemáticos o potencial de disseminação de *T. peregrinus* pelas regiões do mundo. Os autores destacam que, devido ao aumento das áreas com plantios de eucalipto, atenção especial deve ser dada a regiões como o sul dos Estados Unidos, América Central, sul da China e países vizinhos. Estas regiões, segundo os autores, apresentam condições climáticas favoráveis e ainda não têm registros da presença do percevejo-bronzeado.

Thaumastocoris peregrinus foi descrito por Carpinteiro & Dellapé (2006), na Argentina. A revisão do gênero *Thaumastocoris*, foi publicada no ano de 2011 (NOACK; CASSIS; ROSE, 2011), devido à possibilidade da descrição de alguns caracteres morfológicos, feita na Argentina, não terem contemplado as variações morfológicas e genéticas, existentes em populações nativas da Austrália (PENTEADO; QUEIROZ; BARBOSA, 2014).

O percevejo-bronzeado, *T. peregrinus*, é um inseto pequeno, de corpo achatado, com aproximadamente 3,0 (três) mm de comprimento quando adulto. Na sua cabeça há presença de placas mandibulares desenvolvidas, antenas com quatro segmentos, sendo os apicais mais escuros e os olhos são avermelhados. Os insetos adultos apresentam coloração marrom clara, as ninfas são claras e vão escurecendo com o tempo. Os ovos são pretos, achatados e com a região central côncava, depositados agrupados, preferencialmente, nas imperfeições ou próximo à nervura das folhas, ramos e pecíolos. No período ninfal apresentam cinco ínstares e o período de vida (ovo-adulto) dura cerca de 60 dias, podendo variar de acordo com as condições climáticas (CARPINTEIRO; DELLAPÉ, 2006; NOACK; CASSIS; ROSE, 2011; SOLIMAN et al., 2012).

Por tratar-se de uma espécie fitófaga, tanto no estágio de ninfa quanto no estágio adulto, este inseto perfura o limbo foliar para sugar a seiva e as injúrias ocasionadas são o prateamento das folhas seguido do secamento e posterior queda (WILCKEN, 2008b;

WILCKEN et al., 2010). Quando fortemente atacadas, as árvores apresentam um tom avermelhado nas folhas e conforme a infestação progride, a copa inteira fica amarelo-avermelhada e a árvore começa a perder as folhas (NOACK et al., 2009). Devido a essa característica relaciona-se o nome vulgar: percevejo-bronzeado.

As espécies de eucalipto mais suscetíveis ao ataque de *T. peregrinus* na África do Sul são *E. camaldulensis* e *E. tereticornis*, sendo *E. grandis*, *Eucalyptus paniculata*, *Eucalyptus robusta* e *Eucalyptus saligna*, mais resistentes (JACOBS; NESER, 2005). Na região de Sydney, Austrália *Eucalyptus scoparia* e *Eucalyptus nichilii* demonstraram ser mais susceptíveis ao ataque de *T. peregrinus* (NOACK; ROSE, 2007; NOACK et al. 2009). Na Argentina, *Eucalyptus dunnii* é mais susceptível e *E. tereticornis*, *E. grandis* e *Eucalyptus viminallis* mais resistentes ao ataque de *T. peregrinus* (SANTADINO et al., 2009).

No Brasil, as espécies de eucalipto *E. urophylla* e *E. grandis* favoreceram o desenvolvimento e a reprodução de *T. peregrinus* (SOLIMAN, 2010), *E. dunnii* é mais susceptível ao ataque de *T. peregrinus* do que *E. benthamii* (BELINOVSKI et al. 2011). Os híbridos de eucalipto *E. saligna* × *Eucalyptus botryoides* e *Eucalyptus pellita* × *E. tereticornis* são mais resistentes do que *E. camaldulensis* (MENEZES et al. 2011).

O percevejo-bronzeado é um inseto com capacidade de dano elevado e de ciclo reprodutivo rápido. No Rio Grande do Sul, este inseto apresentou maior pico populacional nos meses de janeiro a março (período do verão), com temperaturas médias de 25°C e baixa umidade relativa do ar (GARLET et al., 2012). Wrege et al. (2012) no estado do Paraná, destacam que nas condições de temperaturas elevadas e baixa umidade relativa do ar o percevejo-bronzeado pode apresentar quase o dobro de gerações, se comparada às regiões com temperaturas menores. Resultados semelhantes foram descritos por Ribeiro et al. (2015), para o estado do Sergipe, onde o pico populacional de *T. peregrinus* ocorreu nos meses de setembro a março, período da primavera e verão, no qual as temperaturas são mais elevadas e a umidade relativa do ar é baixa.

No Paraná, estudos de dinâmica populacional, baseados em uma série histórica de dados climáticos do INMET (Instituto Nacional de Metereologia), permitiram aos pesquisadores determinar que o ciclo de desenvolvimento do *T. peregrinus* é dependente de temperaturas elevadas e pode ocorrer de 7 a 11 gerações em um ano, esses dados podem auxiliar no planejamento estratégico da produção de *E. benthamii* no estado (WREGE et al., 2012; FONTAN et al., 2013).

Diante do exposto, sabe-se que o ataque de *T. peregrinus* em plantios de eucalipto pode causar prejuízos a toda cadeia florestal, entretanto, os dados de estimativa dos danos

causados por essa praga aos plantios de eucalipto são inexistentes. Altas infestações podem causar redução considerável da taxa fotossintética, acarretando queda das folhas, e em alguns casos extremos a morte das árvores. No entanto, existe a possibilidade de recuperação das árvores, emitindo novas brotações (BARBOSA, 2009).

Métodos de controle de *T. peregrinus* ainda estão em fase de pesquisa e desenvolvimento (MUTITU et al., 2013). Há registro do uso do inseticida sistêmico imidacloprido em áreas urbanas na Austrália, por meio de microinjeção no tronco da árvore, tendo sido eficiente naquela ocasião (NOACK et al., 2009), porém esta técnica não é viável do ponto de vista operacional em plantios brasileiros (SOLIMAN, 2014).

No Brasil, alguns inseticidas químicos estão sendo testados para o controle de *T. peregrinus*, dentre eles imidacloprido-tiametoxam e lambda-cialotrina + tiametoxam com eficiência de 99,9% e 99,7%, respectivamente, no controle de ninfas e adultos de *T. peregrinus* em plantio clonal de *Eucalyptus* sp. (TEREZAN, 2009). Os inseticidas Chlorantraniliprole + tiametoxam (Voliam Flexi® 300 SC) e tiametoxam (Actara® 250 WG) foram eficientes no controle de ninfas e adultos de *T. peregrinus* em plantios de eucalipto em Minas Gerais (LIMA et al., 2012). Tiametoxam, tiametoxam + lambdacialotrina e acetato causaram mortalidade acima de 85% sobre ninfas e adultos de *T. peregrinus* no estado de São Paulo (SOLIMAN, 2014). Os inseticidas Imidacloprido, tiametoxam, lambda-cialotrina + tiametoxam e lambda-cialotrina são eficientes, causando 100% de mortalidade em adultos de *T. peregrinus*, 24 dias após aplicação dos tratamentos, no Rio Grande do Sul (MACHADO et al., 2016).

No entanto, no Brasil, mesmo com pesquisas sendo desenvolvidos no intuito de comprovar a eficiência de inseticidas para o controle de *T. peregrinus*, ainda não existem princípios ativos registrados para este inseto junto aos órgãos oficiais, como Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA e Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Paraná – SEAB. Aliado a este fator, as exigências da certificação do Conselho de Manejo Florestal (Forestry Stewardship Council- FSC) aumentam as limitações na utilização do controle químico (NADEL; NOACK, 2012; AGROFIT, 2016; SEAB, 2016).

Verifica-se que é consenso entre os pesquisadores dos países nos quais o percevejo-bronzeado foi detectado, de que o controle biológico é uma das principais estratégias a ser adotada e vem apresentando resultados promissores para o controle deste inseto (BARBOSA et al., 2010a; DIAS et al., 2014; WILCKEN et al., 2015). Destaca-se ainda que o controle biológico pode vir a somar quanto às exigências da certificação florestal e quanto a restrição de utilização de produtos químicos nas florestas, sejam elas plantadas e/ou no manejo de

florestas naturais.

Extratos vegetais também têm sido testados como alternativa ao controle do *T. peregrinus*. Extratos de camomila (*Matricaria chamomilla*), chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*), romã (*Punica granatum*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*) e manjerona (*Origanum majorana*) foram testados sobre insetos adultos de *T. peregrinus*. Os insetos que tiveram contato com extrato de camomila e manjerona apresentaram longevidade média de 2,8 e 2,9 dias, respectivamente, tendo sido reduzidas quando comparadas à testemunha (5,5 dias), além de apresentarem propriedades repelentes (HAAS, 2015). Produtos comerciais utilizados na agricultura alternativa também foram testados sobre *T. peregrinus*, e demonstraram efeito sobre os insetos, sendo que Rotenat® causou 94,4% de mortalidade em adultos, Compostonat® 86,7%, Rotenat CE® 61,1%, Topneem® 52,8% (LORENCETTI et al., 2015).

Na Austrália, foi relatada a presença da microvespa *Cleruchoides noackae* Lin & Huber (Hymenoptera: Mymaridae) parasitando ovos de percevejo bronzeado, único inimigo natural da praga neste ambiente. A utilização de *C. noackae* pode ser promissora para o controle de *T. peregrinus* em diferentes países como a África do Sul, Chile (MUTITU et al., 2013) e Brasil, (BELTRAMIN, 2013, SOLLER et al., 2014). Mesmo com falta de informação na literatura internacional sobre esse inimigo natural (BARBOSA; WILCKEN, 2012), métodos de criação em laboratório têm sido desenvolvidos pela EMBRAPA Florestas, com resultados promissores (HASS; BARBOSA; WILCKEN, 2015).

Neste contexto, também há relatos de percevejos predadores, inimigos naturais de *T. peregrinus,* no Brasil, como *Supputius cincticeps* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) e *Atopozeelus opsimus* Elkins (Hemiptera: Reduviidae) (DIAS et al., 2014). Além desses percevejos predadores, outros predadores foram descritos no Brasil o bicho lixeiro *Chyrsoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae) (BARBOSA, 2010; WILCKEN et al., 2010; SOUZA et al., 2012) e em Portugal *Hemerobius bolivari* Banks (Neuroptera: Hemerobiidae) predando o percevejo-bronzeado (GARCIA et al., 2013).

Além do controle biológico natural, ocorrendo com entomófagos, o controle biológico natural com a ocorrência de entomopatógenos também já foi registrada. *Zoophthora radicans* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) foi observado causando epizootia em *T. peregrinus*, no estado de São Paulo, onde o percevejo tem ocorrência registrada desde o ano de 2009 (MASCARIN et al., 2012). Os gêneros *Paecilomyces* e *Fusarium* foram detectados sobre adultos de percevejo-bronzeado em campo, no Rio Grande do Sul (LAZO, 2012, SAN ROMAN et al. 2012). Adultos deste inseto foram encontrados mortos e aderidos a folhas de

eucalipto em Araraquara/SP, o reisolamento permitiu identificar os gêneros *Botryosphaeria* sp., *Alternaria* sp., *Nigospora* sp., *Davidiellatassiana, Cladosporium* sp. e *Aspergilus* sp. (SOLIMAN, 2014).

Os fungos entomopatogênicos são micro-organismos com amplo espectro de ação, podendo atacar as mais diversas fases de desenvolvimento do inseto. Estes entomopatógenos são virulentos e com penetração via tegumento, o que é uma vantagem em relação a outros agentes entomopatogênicos, como bactérias e vírus. Essa penetração ocorre após a adesão e germinação do fungo na cutícula do hospedeiro, produzindo uma pequena hifa (tubo germinativo) terminada em um apressório. Para adentrar ao corpo do inseto, os fungos produzem, além do apressório, as enzimas quitinase e lipase que rompem a cutícula do hospedeiro e adentram o seu corpo, seguido pela colonização. Durante a colonização o fungo se ramifica no interior do inseto, que pela ação das enzimas, obstrução da hemolinfa ou falta de nutrientes tem seus processos fisiológicos comprometidos e morre. Sobre o cadáver do inseto, o fungo produz grande quantidade de hifas, originando muitos conídios, a conidiogênese, que posteriormente leva à dispersão desses conídios, que pode ocorrer pelo vento, água e animais (ALVES, 1998; BUTT; GOETTEL, 2000; ALMEIDA; MACHADO, 2006).

Segundo Costa et al. (2011) os fungos mais eficientes e usados para controle de insetos na área florestal são *Metarhizium anisopliae* Metsch (Hypocreales: Claviciptaceae) e *Beauveria bassiana* Vuill. (Ascomycetes: Clavicipitaceae). O fungo *B. bassiana* apresenta registros no controle de vários insetos de importância agrícola e florestal, dentre eles o percevejo-castanho-da-raiz *Scaptocoris carvalhoi* (Hemiptera: Cynidae) (XAVIER; ÁVILA, 2005), o pulgão em brássicas *Lipaphis erysimi* (Hemiptera: Aphilidae) (ARAUJO JR et al., 2009), mosca-branca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) (FARIA; MAGALHÃES, 2001; RAMOS et al., 2004, POTRICH et al., 2011), o gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus plantensis* (Coleoptera: Curculionidae), o percevejo-bronzeado do eucalipto *T. peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) (SOLIMAN et al., 2010; SMANIOTTO et al., 2012; LORENCETTI, 2013; SOLIMAN, 2014; LORENCETTI et al., 2015), o piolho-da-alface *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphidae) (SHRESTHA; ENKGAARD; STEENBERG, 2015), dentre outros.

O controle biológico com a utilização de fungos entomopatogênicos tem se mostrado promissor no controle de *T. peregrinus*, tendo estudos e pesquisas que avaliaram o potencial patogênico de *Paecilomyces cateniannulatus* (LAZO, 2012), *B. bassiana* e *Isaria* sp. (LORENCETTI, 2013), sobre adultos do percevejo-bronzeado.

A patogenicidade de *B. bassiana* foi testada com o produto comercial Boveril® SC nas concentrações de 1,0 x 10^4, 1,0 x 10^5, 1,0 x 10^6, 1,0 x 10^7 e 1,0 x 10^8 conídios mL^{-1}, aplicados em folhas de *E. camaldulensis*, verificando mortalidade de 97,5% de *T. peregrinus* no 3° e 4° ínstar, na maior concentração testada (SOLIMAN et al. 2010). Isolados não comerciais de *B. bassiana*, foram testados sobre adultos de *T. peregrinus* e causaram mortalidade em 78,6% dos insetos (LORENCETTI et al., 2011).

O estudo de alternativas de controle de insetos-praga cresce com o aumento do interesse por práticas que minimizem o uso de agroquímicos e promovam a preservação e conservação do ambiente, podendo ser uma boa opção para o manejo integrado de insetos-praga e a manutenção de organismos não-alvo benéficos ao ambiente.

A adoção de medidas para o controle do *T. peregrinus* ainda estão em estudo e a falta de princípios ativos registrados para o percevejo-bronzeado junto aos órgãos oficiais (AGROFIT e SEAB) (AGROFIT, 2016; SEAB, 2016), bem como os entraves dos processos da certificação florestal, o qual impõe severas restrições quanto ao uso de inseticidas químicos para o controle de pragas no setor florestal, favorecem as estratégias de controle biológico que vem sendo estudadas, dentre elas a utilização de *B. bassiana*.

Além disso, a patogenicidade dos fungos deve ser estudada em todas as fases de desenvolvimento dos insetos, a fim de determinar em qual estágio de desenvolvimento o inseto é mais suscetível ao entomopatógeno e, consequentemente, o controle será mais eficiente. Soma-se a isso, a necessidade de produtos registrados, no Brasil, para o controle deste inseto em áreas infestadas, alavancando a importância de testes com isolados comercias de *B. bassiana* e de outros fungos.

2 AÇÃO DE *Beauveria bassiana* VUILL. (ASCOMYCETES: CLAVICIPITACEAE) SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO & DELLAPÉ (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)

2.1 INTRODUÇÃO

O percevejo-bronzeado, *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), é um inseto fitófago que ataca, preferencialmente, árvores pertencentes ao gênero *Eucalyptus*. Este inseto é originário da Austrália e nos últimos anos vem se dispersando rapidamente, com ocorrência registrada em vários países (JACOBS; NESER, 2005; CARPINTEIRO; DELLAPÉ, 2006; NOACK; COVILELLA, 2006; WILCKEN et al., 2010; MARTINEZ; BIANCHI, 2010; NADEL, et al., 2010; IDE, et al., 2011; NOACK; CASSIS; ROSE, 2011; LAUDONIA; SASSO, 2012; SOPOW et al., 2012; GARCIA et al., 2013), infestando diferentes espécies, clones e híbridos de eucalipto plantados nesses países.

No Brasil, *T. peregrinus* foi detectado em 2008 (WILCKEN et al., 2010), e desde então tem se disseminado rapidamente em todos os estados produtores de eucalipto (WILCKEN et al., 2010; BARBOSA et al., 2010; SAVARIS et al., 2011; PEREIRA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2015). Na região Sudoeste do Paraná, este inseto foi detectado em junho de 2012, atacando árvores de *Eucalyptus camaldulensis* (LORENCETTI et al., 2015).

Quando adulto, *T. peregrinus* apresenta cerca de 3 mm e coloração marrom-clara, seus ovos são pretos e encontrados agrupados nas folhas, flores e ramos das plantas (JACOBS; NASER, 2005; CARPINTEIRO; DELLAPÉ, 2006; BUTTON, 2007). Apresenta cinco ínstares ninfais e ciclo total de, aproximadamente, 60 dias, podendo variar de acordo com as condições climáticas (NOACK; ROSE, 2007; WILCKEN et al., 2010; SOLIMAN et al., 2012). Ao sugar a seiva, o percevejo-bronzeado causa o prateamento das folhas, passando para tons avermelhados, deixando a copa das árvores com aspecto bronzeado, caracterizando a origem do seu nome (JACOBS; NESER, 2005; BARBOSA et al., 2009; WILCKEN et al., 2010).

Um dos principais métodos para o manejo de *T. peregrinus* é o controle biológico, seja ele com uso de fungos entomopatogênicos, parasitoides ou predadores (BARBOSA et al., 2010a; DIAS et al., 2014; MOREIRA, 2104; PODEROSO, 2014; SOLIMAN, 2014; EIDY et al., 2015).

Dentre os fungos entomopatogênicos, *Beauveria bassiana* Vuill. (Ascomycetes: Clavicipitacea) é um dos mais estudados e utilizados para o controle de insetos, tanto na área agronômica e florestal. Este fungo apresenta características desejáveis no controle de insetos, como o largo espectro de ação (quando comparados aos outros entomopatógenos), facilidade de cultivo e replicação *in vitro,* variabilidade genética e ocorrência natural em ambientes equilibrados (ALVES et al., 1998). Diferente de outros patógenos, os fungos causam infecção nos insetos não apenas pela ingestão, mas principalmente pela penetração via tegumento e espiráculos (ALVES, 1998).

Beauveria bassiana é relatado como patogênico a vários insetos da ordem Hemiptera, como mosca-branca *Bemicia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) (FARIA; MAGALHÃES, 2001; RAMOS et al., 2004, POTRICH et al., 2011), percevejo-da-renda da seringueira *Leptopharsa heveae* Drake & Poor (Hemiptera: Tingidae) (TANZINI, 2002), pulgão *Lipaphis erysimi* Kalt (Hemiptera: Aphilidae) (ARAUJO JR et al., 2009), percevejo-de-renda da mandioca *Vatiga manihotae* Drake (Hemiptera: Tingidae) (BELLON et al., 2009), *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psylidae) (PINTO et al., 2012), percevejo-marrom da soja *Euschistus heros* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae) (ZAMBIAZZI et al., 2012) e percevejo-verde *Nezara viridula* Linnaues (Hemiptera: Pentatomidae) (RAAFAT et al., 2015).

Há registros da ocorrência natural de *B. bassiana* controlando *T. peregrinus* em plantios de *Eucalyptus dunnii*, no estado do Rio Grande do Sul (SMANIOTTO et al., 2012) e na região sudoeste do estado do Paraná (LORENCETTI, 2013). Em laboratório, diferentes isolados foram testados sobre ninfas de 3° e 4° ínstar e adultos de *T. peregrinus*, sendo comprovada a patogenicidade sobre estes insetos (SOLIMAN, 2010). Isolados de *B. bassiana* causaram mortalidade (46,8% e 78,6%) em adultos de *T. peregrinus* (LORENCETTI, 2013).

Sabendo que *B. bassiana* apresenta vantagens para o controle de insetos-praga, e verificando casos de ocorrência natural sobre *T. peregrinus*, estudo sobre a ação deste fungo são necessários a fim de elucidar a patogenicidade sobre diferentes fases do inseto. Além disso, o conhecimento da interação entre *B. bassiana*, em especial de um isolado já utilizado comercialmente e *T. peregrinus* pode colaborar para o futuro desenvolvimento e formulação de um produto, destacando que não há produtos registrados para o controle deste inseto (AGROFIT, 2016). Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação do fungo entomopatogênico *B. bassiana*, isolado IBCB 66 sobre diferentes fases de desenvolvimento de *T. peregrinus*, em condições de laboratório.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico I e II da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV). Para a criação em laboratório, realizou-se a coleta de ramos de *Eucalyptus benthamii* infestados com ovos, ninfas e adultos de *T. peregrinus*. A presença de *T. peregrinus* em *E. benthamii* foi confirmada com observação *in loco*, no município de Salgado Filho-PR. Quando necessário, insetos e ovos de *T. peregrinus* foram fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Florestas, situada na cidade de Colombo, Paraná. Para a utilização nos bioensaios, priorizou-se a utilização da 1° geração criada em laboratório, com idade controlada e padronizada.

Para a alimentação e oviposição dos percevejos foram fornecidos ramos de *E. benthammi* e *Eucalyptus dunnii*, coletados em maciços florestais pertencentes a UTFPR-DV. Os ramos, não tratados, coletados em campo, foram envoltos em um chumaço de algodão e mantidos em frascos de vidro, do tipo erlenmeyers, contendo água para conservar a turgidez das folhas pelo maior tempo possível. Estes frascos contendo os ramos e os insetos foram mantidos em câmara climatizada tipo BOD (27 ± 2 °C, fotofase de 14 h, U.R. de 70 ± 10%). Ramos novos de eucalipto foram adicionados aos buquês diariamente, para que os percevejos migrassem dos ramos velhos, sendo esses retirados quando necessário.

O fungo utilizado foi *Beauveria bassiana* IBCB 66 (1,0 x 108 conídios mL-1). Este fungo foi selecionado pelo fato do mesmo já ser empregado na produção orgânica na região Sudoeste do Paraná, para o controle de mosca branca, este mesmo isolado tem sido testado em bioensaios sobre o percevejo verde da soja.

Para realização dos bioensaios, os tratamentos foram compostos por: Água destilada esterilizada; Água destilada esterilizada + Tween® 80 (0,01%) e *Beauveria bassiana* IBCB 66 (1,0 x 10^8 conídios mL^{-1}). A suspensão de *B. bassiana*, na concentração (1,0 x 10^8 conídios mL^{-1}, foi preparada pesando-se 0,33 g do produto, na forma de pó molhável, e acrescentado em frasco Erlenmeyer com100 mL de água destilada esterilizada contendo o tenso ativo Tween® 80 (0,01%). Em seguida os frascos foram vedados e agitados em Vórtex por cinco minutos, para homogeneização.

2.2.1 Ação de *B. bassiana* sobre ovos de *T. peregrinus*

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado no qual, folhas de *E. benthamii*, previamente esterilizadas com hipoclorito de sódio a 2%, foram dispostas em câmara de fluxo laminar por cinco minutos para evaporação do excesso de água e então, recortadas com 2,4 cm de diâmetro, com auxílio de um vazador. Estes discos foram colocados no interior de tubos de vidro de fundo chato (2,5 cm de diâmetro e 10 cm de altura) esterilizados, contendo 1,0 cm de solução de hidrogel, a fim de manter a turgidez das folhas.

Cartelas contendo massas de ovos de *T. peregrinus* (cartela contendo em média de 10 ovos com idade de 48 horas) foram imersas por cinco segundos na solução referente a cada tratamento, e em seguida, dispostas em câmara de fluxo laminar, por cinco minutos, para evaporação do excesso de água. Na sequência, estas cartelas foram alocadas sobre os discos foliares de eucalipto (trocados a cada dois dias) no interior dos tubos de vidro de fundo chato vedados com *voil*, para permitir as trocas gasosas e evitar a fuga das ninfas após eclosão. Foram realizadas 20 repetições para cada tratamento, sendo estes mantidos em câmara climatizada tipo BOD (27 ± 2 °C, fotofase de 14 h, U.R. de 70 ± 10%).

A avaliação foi realizada diariamente, com auxílio de microscópio estereoscópio Tecnival®, observando-se o período de incubação e determinada a viabilidade dos ovos de *T. peregrinus*. Para avaliação do período de incubação foi considerado o tempo desde a postura dos ovos até a eclosão da ninfa. Para determinação do número de ovos com eclosão das ninfas, considerou-se ovos com ninfas eclodidas + ovos com sinais de abertura opercular mesmo sem observação da saída da ninfa do ovo. A viabilidade média foi determinada com base na razão entre número de ovos com eclosão das ninfas e o número total de ovos de cada tratamento, conforme metodologia adaptada de Soliman et al. (2012).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade, com auxílio do programa BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2007).

2.2.2 Ação de *B. bassiana* sobre ninfas de *T. peregrinus*

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, no qual folhas de *E. benthamii*, previamente esterilizadas com hipoclorito de sódio a 2%, foram imersas por cinco segundos na solução referente a cada tratamento, em seguida, foram dispostas em câmara de fluxo laminar por cinco minutos para evaporação do excesso de água e então, recortadas com 2,4 cm de diâmetro, com auxílio de um vazador. Estes discos foram colocados no interior de tubos de vidro de fundo chato (2,5 cm de diâmetro e 10 cm de altura) esterilizados, contendo 1,0 cm de solução de hidrogel, a fim de manter a turgidez das folhas. Os discos, foram trocados a cada dois dias.

Cada tudo de vidro de fundo chato recebeu uma ninfa de 3° ínstar de *T. peregrinus*, com idade controlada (1° dia de 3° ínstar), totalizando 50 tubos/repetições por tratamento. Estes foram mantidos em câmara climatizada tipo BOD (27 ± 2 °C, fotofase de 14 h, U.R. de 70 ± 10%), vedados com *voil*, para permitir as trocas gasosas e evitar a fuga dos insetos.

Neste bioensaio, por meio da observação diária e com auxílio de microscópio estereoscópio Tecnival® foram avaliadas: a duração e a viabilidade dos ínstares ninfais. A duração de cada ínstar foi determinada como um período entre uma ecdise e a próxima. A viabilidade média (%) foi determinada com base no número de insetos vivos ao final de cada ínstar em razão ao número inicial de insetos.

Os insetos mortos foram imersos por cinco segundos em álcool 70%, para desinfecção superficial e, na sequência, em água destilada esterilizada. Posteriormente foram acondicionados em câmara úmida, preparadas em placas de 16 poços contendo papel filtro esterilizado e umedecido com água destilada esterilizada. Estas foram acondicionadas em bandejas contendo algodão umedecido ao fundo e acondicionados em câmara climatizada tipo BOD (27 ± 2 °C, fotofase de 14 h, U.R. de 70 ± 10%), por até sete dias, para extrusão do fungo.

2.2.3 Ação de *B. bassiana* sobre adultos de *T. peregrinus*

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, a metodologia utilizada foi a mesma descrita no item 2.2.2. Cada tudo de vidro de fundo chato recebeu um inseto adulto de *T. peregrinus* (com idade de 24 horas), totalizando 50 tubos/repetições por tratamento. Estes foram vedados com *voil* para permitir as trocas gasosas e evitar a fuga dos

insetos e mantidos em câmara climatizada tipo BOD (27 ± 2 °C, fotofase de 14 h, U.R. de 70 ± 10%).

Neste bioensaio a longevidade dos adultos de *T. peregrinus* foi determinada por meio de observações diárias, até a mortalidade de todos os insetos. Os insetos mortos foram submetidos à câmara úmida conforme procedimento descrito no item anterior.

Os bioensaios envolvendo a ação de *B. bassiana* sobre ninfas e adultos foram repetidos por três vezes, para a confiabilidade dos resultados, sendo os dados compostos pela média dos três experimentos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade. Também foi realizada a análise de sobrevivência através do método de comparações pareadas, pelo teste Log-Rank, com auxílio do programa BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2007).

2.2.4 Análise Histológica de adultos de *T. peregrinus*

Com o objetivo de verificar a presença do fungo entomopatogênico *B. bassiana* nos tecidos de adultos de *T. peregrinus*, foram coletadas 10 (dez) amostras de insetos mortos de cada tratamento. As amostras foram fixadas em fixador *Bouin* (ácido pícrico saturado 750 mL, ácido acético glacial 50 mL e Formol 30-40% 250 mL) por 6 a 10 h e posteriormente lavados em álcool 70% (3 × 1 h) e, armazenadas em solução de álcool 70% até sua utilização. Para o processamento das amostras, as mesmas foram desidratadas em série crescente de álcool etílico (álcool 80%: 10 minutos, álcool 90%: 10 minutos, álcool 95%: 10 minutos, álcool 98%: 10 minutos, álcool 100%: 2× 15 minutos) e álcool-xilol (1:1: 10 minutos), sendo posteriormente diafanizadas em xilol (xilol I: 20 minutos, xilol II: 20 minutos, xilol III: 10 minutos e xilol-parafina: 30 minutos). Após a completa desidratação e diafanização foi realizada a embebição em parafina (parafina I: "*overnight*" e parafina II: 60 minutos, em estufa à 60°C) e a emblocagem em parafina histológica (parafina histológica / cera de abelha 4:1).

O material emblocado foi cortado em micrótomo Eikonal EK Micro, gerando cortes de 3µm de espessura, montados em lâmina de vidro para microscopia (3,0 × 10,0 cm) contendo uma fina camada de albumina e, posteriormente, assentadas sobre chapa quente para distensão dos cortes. Na sequência, foram eliminados os resíduos de albumina e as lâminas permaneceram 7 dias em estufa a 35º C para secarem completamente.

Os cortes foram corados pelo método H&E (Hematoxilina/Eosina) e para isto foi realizada a desparafinização (xilol I: 30 minutos, xilol II: 15 minutos, xilol-álcool (1:1): 10 minutos, álcool 100% I: 10 minutos, álcool 100% II: 10 minutos) e a reidratação destes em série decrescente de álcool etílico (álcool 90%: 10 minutos, álcool 80%: 10 minutos, lavagem em água corrente: 10 minutos). Para a coloração, os cortes foram banhados em hematoxilina (30 segundos), lavados em água corrente (10 minutos), banhados em eosina (5 segundos) e novamente lavados em água corrente (10 segundos). As lâminas com os cortes ficaram em estufa a 35º C por dois dias para secagem, quando foram recobertas por lamínulas de vidro para microscopia (2,3 × 3,6 cm), fixadas com Bálsamo do Canadá.

As lâminas contendo os cortes foram analisadas em Microscópio de Luz Opton trinocular TNB- 40T-PL, com câmera digital acoplada para captura de imagens, com auxílio do programa software ScopePhoto 2.04 no Laboratório de Microscopia II – UTFPR – DV. A descrição da morfologia dos tecidos de adultos de *T. peregrinus* foi baseada no trabalho desenvolvido por Souza (2012). A comparação da composição dos tecidos das amostras de insetos oriundos dos tratamentos testemunha (Água destilada esterilizada) e insetos oriundos do tratamento com *B. bassiana* com presença de conídios foi baseada no estudo desenvolvido por Raafat et al. (2015).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Ação de *B. bassiana* sobre ovos de *T. peregrinus*

Não houve diferença quanto ao período médio de incubação dos ovos de *T. peregrinus*, variando de 60,2 ± 0,25 horas para o tratamento Água destilada esterilizada + Tween® (ADET) a 93,0 ± 0,22 horas para o tratamento *B. bassiana* e 93,0 ± 0,25 horas para Água destilada esterilizada (ADE) (Tabela 1).

Tabela 1*:* Período médio de incubação (horas) (± EP), número total de ovos, número de ovos com eclosão das ninfas e viabilidade (%) dos ovos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), nos diferentes tratamentos, (26 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.

TRATAMENTOS	**Período de incubação[1]**	**N° total de ovos[2]**	**N° de ovos com eclosão das ninfas[3]**	**Viabilidade (%)[4]**
Água destilada esterilizada (ADE)	93,0 ± 0,25 a	61	22	36,0 a
Água destilada esterilizada + Tween® (ADET)	60,2 ± 0,80 a	65	31	47,7 a
B. bassiana IBCB 66	93,0 ± 0,22 a	67	40	59,7 a

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na **coluna**, não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$).
[1]O período de incubação dos ovos foi analisado desde a postura do ovo até a eclosão da ninfa.
[2] Número de ovos total de cada tratamento.
[3] Ovos com eclosão das ninfas: ovos com ninfas eclodidas + ovos com sinais de abertura opercular, mesmo sem observação de saída da ninfa do ovo.
[4] Viabilidade calculada com base no número de ovos com eclosão das ninfas em relação ao número total de ovos de cada tratamento.

Não foi observada ação de *B. bassiana* sobre a viabilidade de ovos de *T. peregrinus*. A viabilidade dos ovos foi de 36% no tratamento ADE, 47,7% no tratamento ADET e 59,7% para o tratamento com *B. bassiana* (Tabela 1).

2.3.2 Ação de *B. bassiana* sobre ninfas e adultos de *T. peregrinus*

A duração média do terceiro ínstar de *T. peregrinus* não apresentou diferença quando submetido aos diferentes tratamentos (Tabela 2, Figura 1), variando de 68,7 ± 1,66 horas Água Destilada Esterilizada (ADE), 71,3 ± 1,91 horas para *B. bassiana* e 86,5 ± 1,82 horas para Água Destilada Esterilizada + Tween® (ADET). A duração do quarto ínstar de *T. peregrinus* foi reduzida quando este inseto entrou em contato com *B. bassiana*, apresentando 57,6 ± 2,51 horas, diferindo dos tratamentos testemunha ADE com 79,6 ± 2,03 horas e ADET com de 89,3 ± 2,13 horas (Tabela 2, Figura 1).

O mesmo ocorreu com quinto ínstar, no qual o tratamento com *B. bassiana* reduziu a duração do ínstar para 40,9 ± 1,35 horas, enquanto os insetos submetidos aos tratamentos ADET e ADE apresentaram duração média de 91,3 ± 2,51 e 94,4 ± 2,39 horas, respectivamente, não diferindo entre si (Tabela 2, Figura 1).

A duração do período ninfal de *T. peregrinus*, do 3° ao 5º ínstar, variou de 266,4 ± 0,23 horas quando submetido ao tratamento ADET, 242,4 ± 0,21 horas quando submetido ao tratamento ADE e 170,4 ± 0,16 horas quando em contato com o tratamento com *B. bassiana,* sendo que este último diferiu significativamente dos demais tratamentos (Tabela 2).

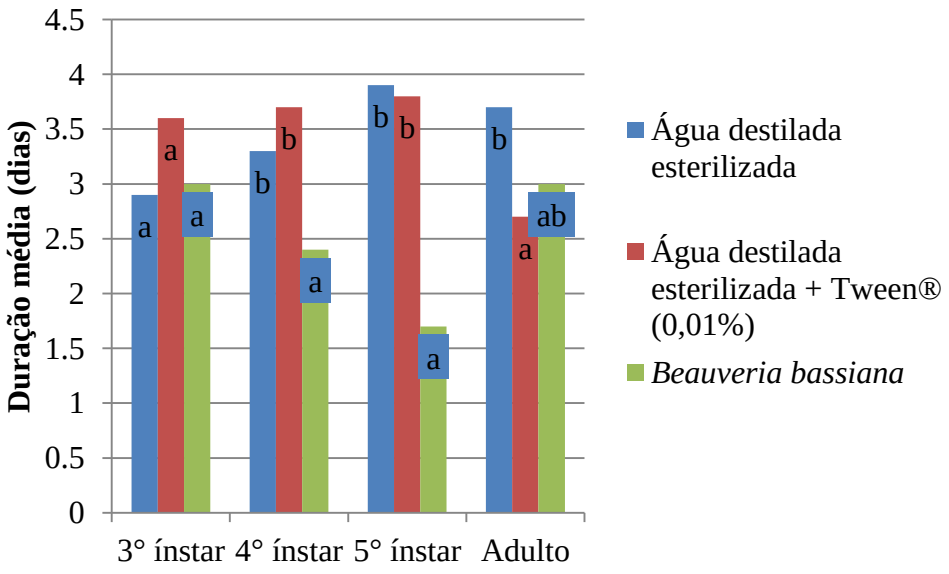

Figura 1: Duração média (dias) de ninfas e adultos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) submetidos aos diferentes tratamentos, (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.

A sobrevivência estimada (%) e o tempo de vida (horas) para ninfas de 4º e 5º ínstares de *T. peregrinus* nos tratamentos testemunha e *B. bassiana* pode ser observado na Figura 3. Nota-se que as curvas de sobrevivência estimadas remetem aos mesmos resultados observados durante o desenvolvimento do trabalho demonstrando que as ninfas de 4° e 5° instar de *T. peregrinus*, submetidas ao tratamento com *B. bassiana* reduziram a sobrevivência no tempo (horas) quando comparados aos insetos submetidos ao tratamento testemunha (Água Destilada Esterilizada). Para análise de sobrevivência, utilizaram-se as médias do tratamento testemunha Água Destilada Esterilizada, uma vez que o tratamento Água Destilada Esterilizada + Tween®, nestes casos, não influenciou na sobrevivência de *T. peregrinus*.

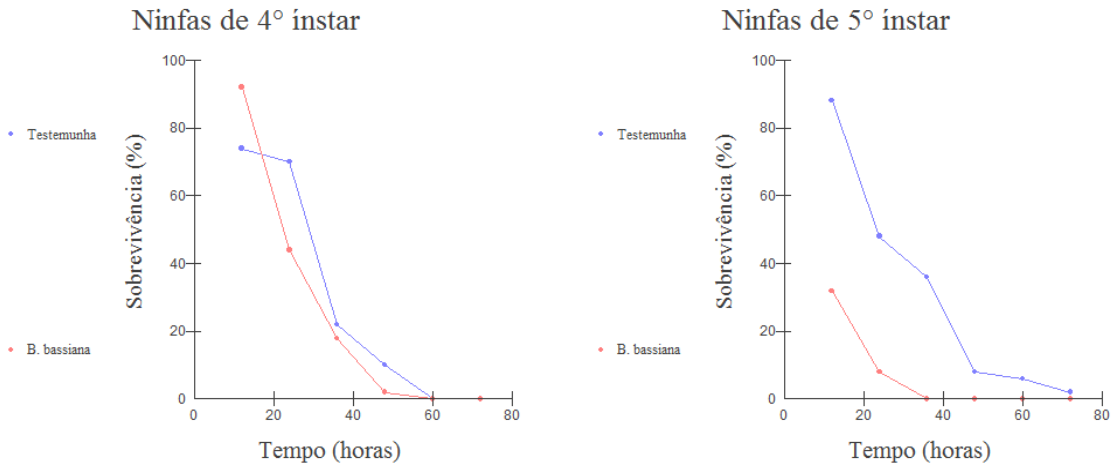

Figura 2: Curvas de sobrevivência estimadas pelo método de comparações pareadas, pelo teste Log-Rank, para ninfas de 4° e 5°ínstar de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), submetidos aos diferentes tratamentos , (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.

Tabela 2: Duração Média (D) em horas (h) (± EP), dias (d) e Viabilidade (V) (%), dos ínstares ninfais de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) submetidos aos diferentes tratamentos, (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.

TRATAMENTOS	**Terceiro ínstar**			**Quarto ínstar**			**Quinto ínstar**			**Período ninfal**
	D (h)[1]	**D (d)[2]**	**V[3]**	**D (h)[1]**	**D (d)[2]**	**V[3]**	**D (h)[1]**	**D (d)[2]**	**V[3]**	**D (d)[2]**
Água destilada esterilizada (ADE)	68,7±1,66 a	2,9	90±2,81 ab	79,6±2,03 b	3,3	78±3,49 b	94,4±2,39 b	3,9	72±4,05 b	10,1±0,21 b
Água destilada esterilizada + Tween® (ADET)	86,5±1,82 a	3,6	94±2,51 b	89,3±2,13 b	3,7	88±3,06 b	91,3±2,51 b	3,8	78±3,50 b	11,1±0,23 b
B. bassiana IBCB 66	71,3±1,91 a	3,0	88±2,74 a	57,6±2,51 a	2,4	58±3,65 a	40,9±1,35 a	1,7	38±2,84 a	7,1±0,16 a

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na **coluna**, não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$).

[1] A duração média em horas foi determinado como o período entre uma ecdise e a próxima

[2] Duração média em dias foi obtida pela razão D (h)/24 horas/dia.

[3] Viabilidade média foi determinada com base no número de insetos vivos ao final de cada ínstar em razão ao número inicial de insetos de cada ínstar.

Adultos de *T. peregrinus* submetidos ao tratamento *B. bassiana* tiveram longevidade de 71,2 ± 1,79 horas, não diferindo dos adultos de *T. peregrinus* provenientes dos tratamentos ADET, com menor média de longevidade (65,6 ± 1,60 horas) e ADE com maior média de longevidade (89,7 ± 1,72 horas) (Tabela 3, Figura 1).

Tabela 3: Longevidade em horas e dias (± EP), dos adultos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) submetidos aos diferentes tratamentos, (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.

	Longevidade (horas)[1]	**Longevidade (dias)[2]**
Água destilada esterilizada	89,7 ± 1,72 b	3,7
Água destilada esterilizada + Tween®	65,6 ± 1,60 a	2,7
B. bassiana IBCB 66	71,2 ± 1,79 ab	3,0

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na **coluna**, não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis (p≤0,05).
[1] A longevidade em horas foi determinada por meio de observações diárias até a mortalidade de todos os insetos
[2] Longevidade média em dias foi obtida pela razão Longevidade (h)/24 horas/dia.

Verificou-se que *B. bassiana* foi patogênico a todos os ínstares ninfais e à fase adulta de *T. peregrinus,* conforme mortalidade confirmada observada após o inseto ser submetido à câmara úmida (Figura 2).

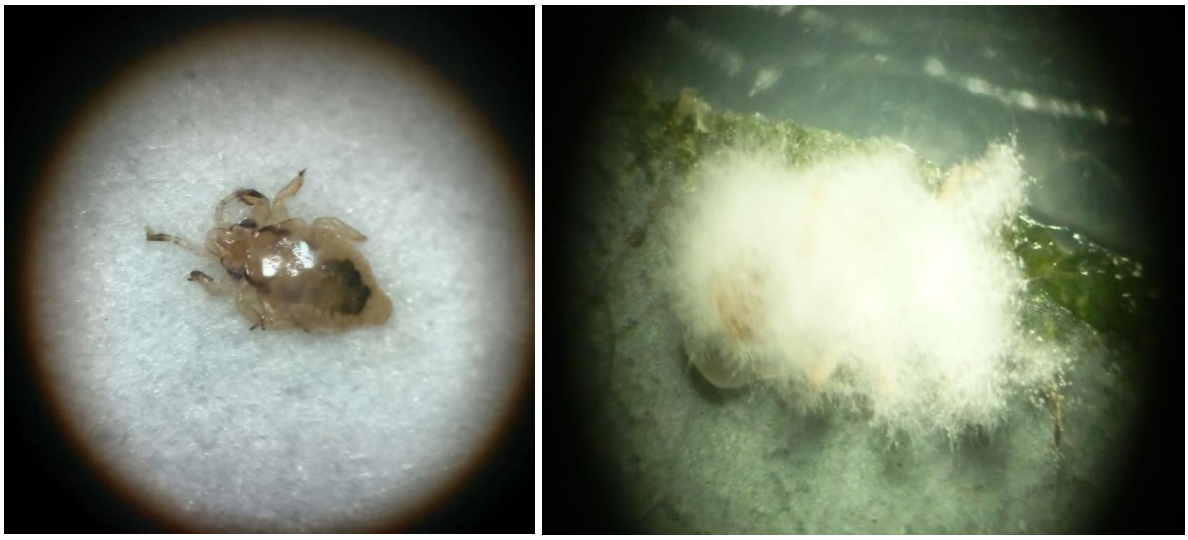

Figura 3: A- Ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) que foram submetidas ao tratamento com *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae); B: Extrusão do fungo *B. bassiana* sobre *T. peregrinus* (27 ± 2°C, 14 h de fotofase e U.R. de 70 ± 10%). UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2016.

2.3.3 Análise Histológica de adultos de *T. peregrinus*

Verificou-se nos tecidos de adultos de *T. peregrinus* que entraram em contato com o fungo *B. bassiana*, hifas, conídios e conidióforos. Destes, os tecidos em que se observou maior quantidade de hifas foram os tecidos componentes do sistema digestivo e do sistema muscular (Figura 4). Além disso, foram observados o rompimento da cutícula de *T. peregrinus* e a saída (extrusão) de *B. bassiana* com conidiogênese (Figura 4F).

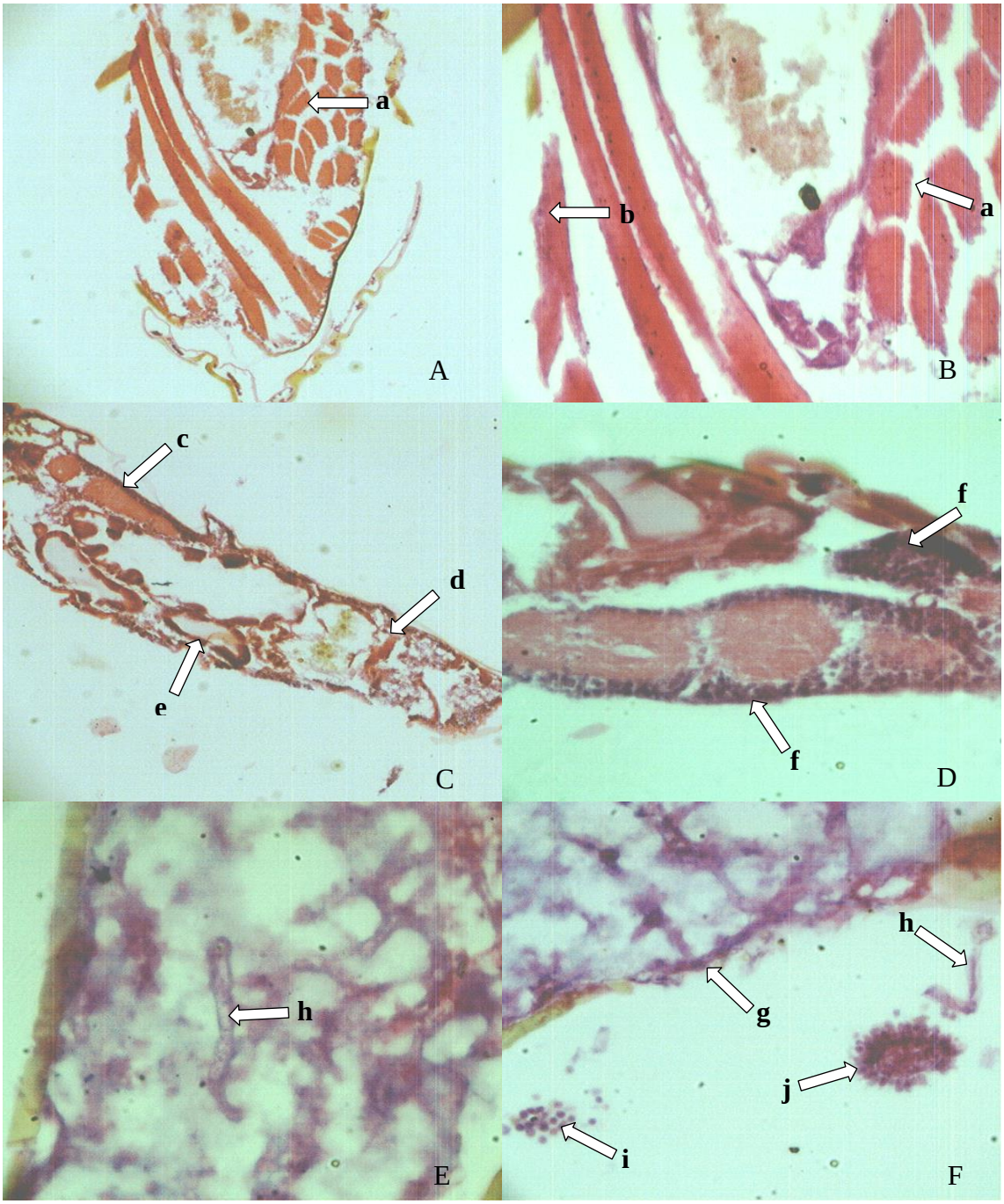

Figura 4: A e B: Análise histológica de tecidos de adultos de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridade) que tiveram contato com o tratamento Água destilada Esterilizada; C, D, E e F: Adultos de *T. peregrinus* que entraram em contato com o tratamento *Beauveria bassiana* IBCB 66 (Ascomycetes: Clavicipitaceae). a) musculatura sem deformações; b) núcleo da célula; c) musculatura da asa; d) reto; e) intestino médio; f) conídios de *B. bassiana* na musculatura; g) rompimento da cutícula; h) hifa de *B. bassiana*; i) conídios de *B. bassiana* na parte externa; j) conidióforo de *B. bassiana*.

2.4 DISCUSSÃO

Os fungos entomopatogênicos causam mortalidade em insetos, e podem agir sobre os aspectos biológicos destes, como a oviposição, fecundidade, viabilidade de ovos, desenvolvimento de ninfas e adultos, afetando todo o ciclo de vida do inseto em condições de campo (MULOCK; CHANDLER, 2001) e, principalmente, em laboratório.

Avaliando-se aspectos biológicos de *T. peregrinus* sob a ação de *B. bassiana*, verificou-se que o período de incubação dos ovos deste inseto de 60,2 ± 0,80 (ADET), 93,0 ± 0,25 (ADE) e 93,0 ± 0,22 (*B. bassiana*) à temperatura de 27±2°C, este resultados foram menores (independente do tratamento) do que o observado por Noack e Rose (2007), no qual o período de incubação dos ovos foi de 144 horas, com viabilidade média de 19% à temperatura de 17 a 20°C. Em resultados encontrados por Soliman et al. (2012), os autores descrevem o período de incubação dos ovos de *T. peregrinus* de 151,7 horas e viabilidade média de 89,7% à temperatura de 26°C.

Longos períodos de incubação dos ovos em temperaturas amenas 14°C (502,1 horas) e 18°C (319,4 horas) favorecem a durabilidade dos ovos (3 a 4 meses), como ocorre no inverno do Brasil e podem gerar descendentes férteis. Contudo, em temperaturas elevadas 30°C (116,2 horas), a incubação dos ovos pode ser mais rápida, demonstrando a elevada capacidade de se ter um grande número de gerações de *T. peregrinus* ao longo dos períodos mais quentes do ano (SOLIMAN, 2010).

Neste trabalho, o período de incubação reforça a suposição de Soliman (2010), de que esta condição de temperatura possa favorecer maior número de gerações de *T. peregrinus* durante o ano. Ressalta-se que nem o período de incubação e nem a viabilidade dos ovos de *T. peregrinus* foi afetada por este isolado de *B. bassiana* IBCB 66, além disso, o conhecimento dessas características é um fator importante a se considerar para traçar estratégias de controle nas diferentes épocas do ano.

Isolados de *B. bassiana* foram descritos causando infecção em ovos de *Blissus antillus* Leonard (Hemiptera: Lygaeidae), variando entre 7,8% e 43,3%, o que corresponde a uma baixa virulência (SAMUELS et al., 2002). Ovos de *Diatraea saccharis* Fabr. (Lepidoptera: Crambidae), pulverizados com *B. bassiana* na concentração 1,0 x 10^5, 1,0 x 10^4 e 1,0 x 10^3 conídios mL^{-1}, apresentaram viabilidade de 48,5%, 63,4% e 83,3%, respectivamente, enquanto que para a testemunha a viabilidade foi de 88,4% (OLIVEIRA et al., 2008). *B. bassiana* foi capaz de colonizar a superfície do cório do ovo de *Diatraea saccharis* Fabr.

(Lepidoptera: Crambidae), mas não atingiu o embrião, permitindo a eclosão das larvas, isso pode ter ocorrido pela proteção proporcionada pelo cório impedindo a penetração do fungo, mas também pela rápida eclosão das larvas (SIMI, 2010).

O efeito de fungos sobre insetos considerados praga demonstram que a utilização de *B. bassiana* tem sido eficiente para o controle destes, mas a susceptibilidade de ovos de insetos aos agentes de controle microbiano, dentre eles os fungos entomopatogênicos, tem sido pouco discutida na literatura (VALENTE et al., 2014). Além disso, não foram encontrados na literatura estudos avaliando a ação de *B. bassiana* sobre ovos de *T. peregrinus*.

A não interferência de *B. bassiana* sobre o período de incubação e a viabilidade dos ovos de *T. peregrinus* pode ter sido influenciada pela composição do cório do ovo deste inseto, que é composto por quatro camadas exocório, endocório, camada de ar e camada coriônica interna (SOUZA, 2012). O exocório e o endocório são formados por células foliculares ainda no ovário e o principal constituinte dessas células são proteínas que podem endurecer antes ou depois da oviposição. A espessura do cório pode variar de 1µm para insetos da ordem Hymenoptera a 5µm para insetos da ordem Orthoptera e Lepidoptera (CHAPMAN, 2013).

Alguns fungos oportunistas foram encontrados por Soliman (2010) se desenvolvendo sobre a parte externa de ovos de *T. peregrinus*, contudo, a emergência de ninfas não foi comprometida, concluindo que não houve perda da viabilidade dos ovos. Desta forma, acredita-se que as camadas presentes no cório do ovo de *T. peregrinus* formam barreiras de proteção à penetração do apressório de *B. bassiana* e, possivelmente, de outros fungos, o que pode estar relacionado ao fato deste entomopatógeno não ter reduzido a viabilidade dos ovos deste inseto.

Beauveria bassiana também não apresentou efeito sobre ovos de *B. tabaci*, já para ninfas a mortalidade foi de 62% (RAMOS et al., 2004). A menor susceptibilidade dos ovos pode estar relacionada às barreiras físicas do próprio cório do ovo, impedindo a colonização do embrião, mas não necessariamente evita a mortalidade nos estágios posteriores de contato com o fungo.

Outro fator que deve ser levado em consideração é idade do ovo, que pode diminuir as chances de infecção pelo endurecimento do cório, formando uma barreira física e química por torná-lo mais estável a ação enzimática dos patógenos (ALVES, 1998). Segundo Valente (2014), ovos de *Diatracea flavipennela* Box (Lepidoptera: Crambidae) de 24 horas de idade são mais susceptíveis a infecção pelo fungo *B. bassiana*, já para *M. anisopliae* ovos de 24, 48 e 72 horas são susceptíveis a infecção. No presente trabalho, os ovos de *T. peregrinus* que

foram submetidos aos tratamentos apresentavam 48 horas de idade, o que provavelmente reduziu a possibilidade de infecção.

O período ninfal geralmente é mais susceptível à entomopatógenos, quando comparado à fase de ovo ou à fase adulta. Isso se deve, pois, diferentemente da fase de ovo, a fase de ninfa não apresenta cório como proteção e, diferentemente da fase adulta, não apresenta as asas, que também podem contribuir na proteção. Este fato pôde ser verificado no presente trabalho, no qual ninfas de 4° e 5° ínstares foram suscetíveis à *B. bassiana*.

A redução na viabilidade das ninfas de 4° e 5° ínstar e a não redução na viabilidade de ninfas de 3º instar, que entraram em contato com *B. bassiana*, pode ter ocorrido devido ao momento em que estas ninfas entraram em contato com este entomopatógeno. Neste caso, as ninfas de 3º ínstar entraram em contato direto com *B. bassiana*, porém, segundo Alves et al. (1998), a germinação dos conídios de *B. bassiana* ocorre, geralmente, 12 horas após a inoculação, e a colonização em até três dias, o que pode ter ocorrido apenas quando esta ninfa já estava em seu 4º ou 5º ínstar.

No presente trabalho avaliou-se o período ninfal do 3° ao 5° ínstar, o qual variou de 170,4 ± 0,16 horas para *B. bassiana*, 242,4 ± 0,21 horas para ADE e 266,4 ± 0,23 horas para ADET. A duração do período ninfal de *T. peregrinus* que entrou em contato com os tratamentos corrobora com os verificados por Noak e Rose (2007), os quais observaram 295,2 horas e Soliman (2010), que observou 230,9 horas de duração de *T. peregrinus*.

Beauveria bassiana IBCB 66 não foi patogênico para adultos de *T. peregrinus* nas condições testadas. A longevidade foi variável em função do contato ou não com *B. bassiana*, insetos que tiveram contato com o fungo tiveram a longevidade reduzida. Soliman (2010) testou *B. bassiana* na concentração 1,0 x 10^8 conídios mL^{-1} e constatou que este entomopatógenos foi patogênico para ninfas e adultos de *T. peregrinus*, com mortalidade verificada aos 2 dias após a aplicação. Isolados de *B. bassiana*, na concentração 1,0 x 10^8 conídios mL^{-1}, causaram mortalidade variando de 46,8% a 78,6% em adultos de *T. peregrinus* (LORENCETTI et al., 2011).

As ninfas são mais sensíveis que adultos à infecção e morte por fungos entomopatogênicos, porém a troca de ecdise pode ser um fator que lhes garante proteção (SOLIMAN, 2014), o que não foi observado no presente trabalho. Os adultos são normalmente mais resistentes, devido às barreiras físicas, como exoesqueleto e asas. Porém, segundo Soliman (2014), estas podem ser vencidas pelo fungo, além disso, a maior área de exposição, locomoção e comportamento de cópula, os torna vulneráveis.

O tegumento dos insetos apresenta uma barreira física para a penetração do tubo germinativo do fungo e poder ter propriedades químicas que inibem a germinação dos conídios (RAMOS et al., 2004), por outro lado pode ser fonte de nutrientes e atrativas para outros fungos (ALVES et al., 1998).

Os fungos apresentam vantagens no controle de insetos, entre elas a infecção via tegumento, e não apenas por ingestão (ALVES et al., 1998). Dessa forma, a aplicação do fungo sobre o substrato (folha) se torna eficiente para promover a ação do fungo sobre o inseto, uma vez que além de se alimentar da seiva, o inseto precisa se locomover e ovipositar sobre a mesma, aumentando a chance de infecção e disseminação do fungo (LORENCETTI, 2013). O percevejo-bronzeado, após a morte por fungos, fica aderido às folhas e/ou superfícies, e os machos tentam copular com as fêmeas mortas (SOLIMAN, 2014), o que potencializa a dispersão desses conídios e também possíveis epizootias.

A adoção de medidas de controle com a utilização de fungos entomopatogênicos poderá estar contemplada em um programa de manejo integrado de pragas, no qual outras estratégias de controle podem ser somadas uma vez que esta espécie de fungo é compatível com extratos vegetais (MARQUES; MONTEIRO; PEREIRA, 2004; MARTINS; ALVES; MAMPRIM, 2016) e vários parasitoides (POLANCZYK et al., 2010; POTRICH et al., 2015).

Beauveria bassiana causou desintegração das estruturas internas de *T. peregrinus*, observadas na análise histológica de adultos. Sikura et al. (1972) observaram que *B. bassiana* provocou injurias histológicas nos tecidos de ovários de adultos de *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae), reduzindo a fecundidade das fêmeas pela degeneração dos tecidos. Raafat et al. (2015) registraram o rompimento e penetração da cutícula de *Nezara viridula* Linnaeus (Hemiptera: Pentatomidae) por *B. bassiana,* bem como presença de esporos nos tecidos, sendo estes resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Thaumastocoris peregrinus possui um par de glândulas salivares principais bilobadas entre os segmentos do meso e metatórax. As paredes dos lóbulos são formados por uma camada simples de células cúbicas sendo algumas binucleadas. Cada glândula possui um duto principal formado por uma camada simples de células achatadas. O canal alimentar é formado por uma faringe curta, seguida por um esôfago longo e fino terminando em um proventrículo simples e uma válvula estomodeal. O sistema digestivo de *T. peregrinus* é formado por um tubo longo com algumas regiões dilatadas (intestino médio é composto por uma região anterior dilatada e sem secos gástricos, uma região mediana longa e estreita e outra posterior curta e dilatada), semelhante ao *T. autralicus* (KUMAR, 1964; SOUZA, 2012), sendo que os tecidos deste sistema foram os que apresentaram maior número de hifas de *B. bassiana*

observados na histologia realizada no presente trabalho. O intestino posterior é composto por uma região de transição com o intestino médio que é aonde ocorre a inserção de dois pares de tubos de Malpighi, um curto íleo e um reto com parede epitelial com grande quantidade de dobras, cutícula espessa e células achatadas. O intestino de *T. peregrinus* é o que apresenta menor complexidade quando comparado a outros insetos da ordem Hemiptera. As três regiões do intestino tem funções fisiológicas de armazenamento e absorção de água (anterior) e absorção de nutrientes (mediana e posterior) (CHAPMAN, 1998; SILVA et al., 2012; SOUZA, 2012). Uma vez que ocorre a infecção de fungos entomopatogênicos e a colonização destes tecidos, a absorção de água e nutrientes fica comprometida, reduzindo a longevidade e a viabilidade deste inseto, podendo ocasionar a mortalidade do mesmo.

O registro de novas ocorrências e a rápida disseminação de *T. peregrinus* na América do Sul e no Brasil demonstra a fragilidade que ainda se tem no controle de insetos exóticos, reafirmando a necessidade de se investir em medidas fitossanitárias eficientes, de baixo custo e sem danos ao ambiente, o que tem levado pesquisadores e empresas florestais a desenvolverem estudos e pesquisas em busca de alternativas para o controle deste inseto. Neste sentido, métodos de controle e/ou agentes de controle que possam estar atreladas a um programa de manejo integrado de pragas florestais são necessários em áreas com intensa infestação e que estejam em acordo com a certificação florestal (LEMES; ZANUNCIO, 2016).

Aliado a isso, a falta de produtos registrados junto aos órgãos oficiais (AGROFIT e SEAB) (AGROFIT, 2016; SEAB, 2016) para o controle de *T. peregrinus* intensificam a potencialidade de estudos e pesquisas com a utilização de agentes de controle biológico, dentre eles *B. bassiana*. A fim de potencializar ainda mais, testes com isolados disponíveis no mercado e já registrados para o controle de outros insetos, tornam-se promissores e podem otimizar o processo de registro para o controle de *T. peregrinus*.

Assim, no presente estudo, verificou-se que *B. bassiana* IBCB 66 mostra-se como um agente promissor para o controle de *T. peregrinus*, em especial no estágio de ninfa. Estudos com diferentes estratégias de aplicação de *B. bassiana*, com avaliação de outros parâmetros biológicos de *T. peregrinus* e com o teste de novos isolados devem ser contínuas, a fim de se buscar a estratégia mais eficiente para o controle deste inseto.

2.5 CONCLUSÕES

Os ovos de *T. peregrinus* não são susceptíveis a ação de *B. bassiana* IBCB 66;

O fungo *B. bassiana* IBCB 66 é patogênico para ninfas de 4° e 5° ínstar de *T. peregrinus* reduzindo a duração e a viabilidade.

O fungo *B. bassiana* IBCB 66 não foi patogênico para adultos de *T. peregrinus*.

Na análise histológica de adultos de *T. peregrinus* verificou-se, a presença de hifas, conídios e conidióforos, com infecção dos tecidos do sistema digestivo e muscular.

3. REFERÊNCIAS

ABRAF -. **Anuário Estatístico da Associação Brasileira dos Produtores de Florestas 2013: ano base 2012**. Brasília, DF. ABRAF, 2013. 142 p.

AGROFIT- MAPA- Ministério da Pecuária, Agricultura e Abastecimento. **AGROFIT**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit. Acesso em: 18 fev. 2016.

ALMEIDA, J. E. M.; MACHADO, L. A. **Fungos entomopatogênicos**. Boletim Técnico: Controle Biológico de Insetos e Ácaros, São Paulo, n. 15, p. 13-27, 2006.

ALVES, S. B. 1998. Fungos entomopatogênicos, p. 289–381. In: S. B. Alves (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. (2 ed),v.4. Piracicaba, FEALQ, 1163 p.1998.

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M. MOINO, J. R. A.; ALVES, L. F. A. Técnicas de Laboratório. In. ALVES, S.B. (ed). **Controle Microbiano de Insetos**, Piracicaba: FEALQ. p. 637-711. 1998.

ALVES, L. F. A; BELLON, P. P.; RHEINHEIMER, A. R.; PIETROWSKI V. First record of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on adults of cassava lace bug *Vatiga manihotae* (Drake) (Hemiptera: Tingidae) in Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.2, p. 309-311, 2012.

ANJOS, N.; SANTANA, JORGE AC. **Mais uma Nova Praga Florestal no Brasil: a microvespa**. Viçosa-MG. Sociedade de Investigações Florestais. 2004. Disponível em: http://www.sif.org.br/noticia/mais-uma-nova-praga-florestal-no-brasil-a-microvespa Acesso em 17 set. 2015.

ARAUJO JR, J. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V. Potencial de Isolados de Metarhizium anisopliae e Beauveria bassiana e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão Lipaphis erysimi (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology** v.38 n.4, p. 520-525. 2009.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat: Aplicação estatística nas áreas das ciências biomédicas**. Belém, 2007.

BARBOSA, L. R.; LINZMEIER A. M.; SANTOS, F. **Folder informativo** – Embrapa Florestas. Colombo, Paraná. Jul. 2009.

BARBOSA, L. R. **Percevejo bronzeado: a nova praga de eucalipto.** 2010. Disponível em: http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=20781&secao=Artigos%20Especiais. Acesso em 24 de fevereiro de 2016.

BARBOSA, L. R.; SANTOS, F.; WILKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) no estado do Paraná. Nota Científica. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.30, n.61, p. 75-77, 2010.

BARBOSA, L. R.; SANTOS, F.; MACHADO, B. O.; WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P.; ZACHÉ, B. Percevejo bronzeado do eucalipto: reconhecimento, danos e direcionamentos para o controle. (**Documentos)** 239 – Colombo: Embrapa Florestas, 2012.

BARBOSA, L. R.; WILCKEN, C. F.; Ações de Monitoramento e Controle de *Thaumastocoris peregrinus* no Brasil. IN: IEDE, E. T.; PENTEADO, S. R. C.; FILHO, W. R. Seminário Internacional sobre Pragas Quarentenárias. Colombo : Embrapa Florestas, 2012. (Documentos / Embrapa Florestas) Curitiba. **Anais...** 2012. v. 24. p. 20-22.

BELINOVSKI, C.; BARBOSA, L.; MACHADO, B.; SANTOS, F.; WILCKEN, C.; SOLIMAN, E. Effects of differet species of *Eucalyptus*, leaf surfaces, and honey dew excretion on the survival of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) adults, **IUFRO**, p.64. 2011.

BELLON, P.; RHEINHEIMER, A.; GAZOLA, D.; MIRANDA, A.; PIETROWSKI, V.; ALVES, L.; MONDARDO D. Patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* e *Metharizium anisopliae* Sobre o Percevejo de renda da Mandioca *Vatiga manihotae* (Hemiptera: Tingidae). **Rev. Bras. De Agroecologia** /nov. 2009 Vol. 4 No.

BELTRAMIN, F. S. ; BARBOSA, L. R. ; RODRIGUES, A. P. ; WILCKEN, C. F. ; SOLIMAN, E. P. . Eficiência de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) na redução populacional de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). In: XXIII Simpósio Internacional de Controle Biológico, 2013, Bonito. **Anais...** XXIII Simpósio Internacional de Controle Biológico, 2013.

BREDA, M. O.; OLIVEIRA, J. V.; MOREIRA, A. N.; QUEIROZ, D. L. Registro de *Glycaspis brimblecombei* em *Eucalyptus* spp., em Petrolina, Pernambuco. Nota Técnica: **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo. v. 30, n, 63, p. 253-255, ago./out. 2010.

BUTT, T. M.; GOETTEL, M. S. Bioassays of entomogenous fungi. In: NAVON, A.; ASCHER, K. R. S. (Coord.).**Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes.** Londres: Cabi Publishing, 2000. p.141-191.

BUTTON, G. ***Thaumastocoris peregrinus*. Forest facts**. s. n, 2007. Disponível em: http://www.nctforest.com/showpage.asp?id=44&contentid=423&catid=24 . Acesso em: 20 dez. 2015.

CARPINTERO, D. L.; DELLAPÉ, P. M. A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldy from Argentina (Heteroptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae), **Zootaxa**, v. 1228, n.9, p. 61-68, 2006.

CARRANO-MOREIRA, A.F. **Manejo Integrado de Pragas Florestais**. 1 ed. Rio de Janeiro: Technical Books Editora. 2014. 349 p.

CHAPMAN, R. F.; **The Insects: structure and function**. Cambridge University Press. (ed 5) 929 p. 2013.

COSTA, E. C. D´AVILA, M.; CANTARELLI, E. B.; MURARI, A. B. **Entomologia Florestal**. Santa Maria: UFSM. 2011. 239 p.

DIAS, T. K. R.; WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P.; BARBOSA, L. R.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Predation of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) by *Atopozelus opsimus* (Hemiptera: Reduviidae) in Brazil. **Invertebrate Survival Journal**, v. 11, p. 224-227, 2014.

EIDY, M.; RAFIEE-DASTJERDI, H.; ZARGARZADEH, F.; GOLIZADEH, A.; MAHDAVI, V. Pathogenicity of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) and *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Against Aphid *Macrosiphum rosae*, Linnaeus (Hemiptera: Aphididae) under Laboratory Conditions. **Jordan Journal of Biological Sciences.** v 9, n 1, March .2016 Accepted: December 14, 2015.

EKESI, S.; MANIANIA, N.K. Susceptibility of *Megalurothrips sjostedti* developmental stages to *Metarhizium anisopliae* and the effects of infection on feeding, adult fecundity, egg fertility and longevity. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrencht, v. 94, n. 3, p. 229-236, 2000.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O Uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação atual e perspectivas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n. 22, p. 18- 21, 2001.

FONTAN, I. C. I.; MOREIRA NETO, M.M.A.; FERNANDES, D.E. *Beauveria bassiana* no manejo integrado de *Thaumastocoris peregrinus*(Hemiptera: Thaumastocoridae) em Minas Gerais. In: 13º Simpósio de Controle Biológico, 2013, Bonito/MS. **Anais...** 13º Simpósio de Controle Biológico, 2013.

GARCIA, A.; FIGUEIREDO, E.; VALENTE, C.; MONSERRAT, V. J.; BRANCO, M. First record of *Thaumastocoris peregrinus* in Portugal and of the neotropical predator *Hemerobius bolivari* in Europe. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 66, n. 2, p. 251-256, 2013.

GARLET, J.; COSTA, E. C.; BOSCARDIN, J. NASCIMENTO, M.; PEDRON,L. Flutuação populacional de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) em plantio clonal de *Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla*em Alegrete, RS, Brasil. **Anais**… VII Congresso de Medio Ambiente. La Prata, Argentina, 2012.

HAAS, J. ; BARBOSA, L. R. ; WILCKEN, C. F. *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae) in Brazil. In: **Anais...** MEETING OF IOBC-WPRS STUDY GROUP, 3, 2015, Bornholm. 3rd Meeting of IOBC-WPRS study group ?Benefits and risks of exotic biological control agents?, 2015. p. 6.2.

HAAS, J. Toxicidade de extratos vegetais ao percevejo bronzeado do eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera; Thaumastocoridae) e insetos não alvo. 59 f. Tese (Doutorado em Agronomia). UTFPR- Pato Branco. 2015.

HOLTZ, A.M.; OLIVEIRA, H.G.; PALLINI, A.; MARINHO,J.S.; ZANUNCIO, J.C.; OLIVEIRA, C.L. Adaptação de *Tryrinteina arnobia* em novo hospedeiro e defesa induzida por herbívoros em eucalipto. **Pesq. agropec. bras**, Brasília, v.38, n.4, p.453-458. abr, 2003.

IBÁ – Industria Brasileira de Árvores. **O setor Brasileiro de Árvores Plantadas.** São Paulo, SP. IBÁ, 2015. 80 p.

IDE, S.M.; RUIZ, C. G.; SANDOVAL, A. C.; VALENZUELA, J. E.. Detección de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) associado a *Eucalyptus* spp. em Chile. **Bosques**, Valdivia, v.32, n.3, p.309-313, 2011.

IPEF - Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. **PROTEF realiza importação de inimigo natural de praga do eucalipto**. Informativo on-line. Ed. 15, jul. 2010. Disponível em: http://www.painelflorestal.com.br/arquivo/protef-realiza-importacao-de-inimigo-natural-de-praga-do-eucalipto-07f960146e4fa3b7f1e46db2aa1aa49d. Acesso em: 25 jul. 2015.

JACOBS, D. H.; NESER, S. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in Sounth Africa, damaging to *Eucalyptus* trees. **South African Journal of Science**, v.101, p.233-236, 2005.

KUMAR, R. Anatomy and relationships of Thaumastocoridae (Hemiptera: Cimicoidea). **Journal Entomology Society.** Qd. 3: 48-51. 1964.

LAUDONIA, S.; SASSO, R. The bronze bug, *Thaumastocris peregrines*: a new insect recorded in Italy, damaging to *Eucalyptus* trees. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 65, n. 1, p. 89-93, 2012.

LAZO, M. L. S. R. Caracterização e patogenicidade de fungos entomopatogênicos isolados do percevejo bronzeado do eucalipto, ***Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. 2012. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Proteção de Plantas) Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2012.

LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C. O manejo integrado de pragas florestais em empreendimentos certificados no Brasil. **Jornal SIF**. n 117, v 22. p. 6. 2016.

LIMA, A. C. V.; DIAS, T. K. R.; BARBOSA, L. R.; SOLIMAN, E. P.; SA, L. A. N.; MASSON, M. V.; NEVES, D. A.; WILCKEN, C. F. Primeira ocorrência do percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) no estado da Bahia. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. **Anais...** Natal/RS, 2010.

LIMA, A. C. V.; DUARTE, R. M.; RISSO, E. P. S.; DINIZ, L. H.; PAGANI, L.; MORAES, W. B. Avaliação da eficiência de Voliam Flexi para o controle do percevejo bronzeado, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) em plantio de eucalipto. In: Congresso Brasileiro de Entomologia; 2012; Curitiba. **Anais...** Sociedade Entomológica do Brasil; 2012. p. 1

LORENCETTI, G. A. T.; MENEZES, M. J. S.; JUNG, P. H.; GONÇALVES, T. E.; BARBOSA, L. R.; POTRICH, M.; MAZARO, S. M.; SILVA, E. R. L. Análise do potencial de isolados de *Beauveria bassiana*vuill. (Ascomycetes: Clavicipitaceae) para o controle de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae). In: I CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UTFPR, 2011, Dois Vizinhos/PR **Anais...** Dois Vizinhos, UTFPR, 2011. CD ROM.

LORENCETTI, G. A. T. **Efeito de fungos entomopatogênicos e produtos naturais sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) e indução de resistência em plantas.** 2013, 65f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. Pato Branco, 2013.

LORENCETTI, G.A.T.; POTRICH, M.; SILVA, E.R.L.; MAZARO, S.M.; BARBOSA, L.R. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro e Dellapé na região sudoeste do Paraná. **Floram:Floresta e Ambiente.** n 22 v (3): 434-436. 2015.

LUTINSKI, J. A.; C. J. LUTINSKI & F. R. M. GARCIA. Primeiro registro de *Glycaspis brimblecombei* Moore 1964, (Hemíptera: Psyllidae) em Eucalipto no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural** 36: p. 653–655. 2006

MACHADO, D. N.; COSTA, E. C.; GARLET, J.; BOSCARDIN, J.; PEDRON, L.; PERINI, C. R.; BOLZAN, L. Avaliação de Inseticidas no Controle de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) Percevejo-bronzeado em Condições de Laboratório. **Floram:Floresta e Ambiente.** no.ahead, p.0-0. ISSN 2179-8087. 2016.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v.34, n.6, p 1675-1680, 2004.

MARTINEZ, G.; BIANCHINI, M. Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellappé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). **Agrociencia**, Montevideo, v. 14, n. 1, p. 15-18, 2010.

MARTINS, C. C.; ALVES, L. F. A.; MAMPRIM, A. P. Effect of plant extracts and a disinfectant on biological parameters and pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Braz. J. Biol**. v. 76, n. 2, p. 420-427, 2016.

MASCARIN, G.M.; DUARTE, V.S.; BRANDÃO, M.M.; DELALIBERA JR., I. Natural occurrence of *Zooptthora radicans* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) on *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) na invasive pest recently found in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology,** v.110, p 401-404. 2012.

MASSON, M.V.; MATOS, W.C.; SILVAS, A.G.P.; ALVES, J. M.; RIBEIRO, T.; WILCKEN, C.F. Ocorrência e distribuição populacional do psilídio-da-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore, 1964, (Hemiptera: Psyllidae) em florestas de eucalipto no litoral norte do estado da Bahia, Brasil. **Boletin de Sanidad Vegetal Plagas**, v.35, p.559-562, 2009.

MENEZES, M. J. S.; LORENCETTI, G. A. T.; DALLACORTE, S.; OLIVEIRA, T.M.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L. Preferência alimentar de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) a diferentes espécies do gênero *Eucalyptus*. **Anais...** I Congresso de Ciência e Tecnologia da UTFPR. Dois Vizinhos (PR), 2011.

MENEZES, C.W.G.; SOARES, M.A.; ASSIS JÚNIOR, S.L.; FONSECA, A.J.; PIRES, E.M.; SANTOS, J.B. Novos insetos sugadores (Hemiptera) atacando *Eucalyptus cloeziana* (Myrtaceae) em Minas Gerais, Brasil. **Entomo Brasilis**, v.5 (3), p. 246-248. 2012.

MEYERSON, L. A., MOONEY, H. A. Invasive alien species in an era of globalization. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 5, 199–208, 2007.

MONTEMAYOR, S. I.; DELLAPÉ, P. M.; MELO, M. C. Geographical distribution modelling of the bronze bug: a worldwide invasion. **Agricultural and Forest Entomology**. v. 17, 129–137. 2015.

MULOCK, B.S.; CHANDLER, L.D. Effect of *Beauveria bassiana* on the fecundity of western corn rootworm, *Diabrotica virgifera* virgifera (Coleoptera: Chrysomelidae). **Biol. Control**, Orlando, v. 22, p. 16-21, 2001.

MUTITU, E. K.; GARNAS, J. R.; HURLEY, B. P.; WINGFIELD, M. J.; HARNEY, M.; BUSH, S. J.; SLIPPERS, B. Biology and rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid for biological control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 5, p. 1979-1985, 2013.

NADEL, R. L.; SLIPPERS, B.; SCHOLES, M. C.; LAWSON, S. A.; NOACK, A. E.; WILCKEN, C. F.; BOUVET, J. P.; WINGFIELD, M. J. DNA bar-coding reveals source and patterns of *Thaumastocoris peregrinus* invasions in Sout Africa and South America. **Biol. Invasions**, New York, v. 12, p. 1067-1077, 2010.

NADEL, R. L.; NOACK, A. E. Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. **International Journal of Pest Management**. v. 58, n. 3, p. 257–266, Jul./Set. 2012.

NOACK, A. E.; COVIELLA, C. E. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Hemiptera: Thaumastocoridae): first record of this invasive pest of Eucalyptus in the Americas. **General e Applied Entomology**, New York, v. 35, p. 2, 2006.

NOACK, A.; ROSE, H. Life-history of *Thaumastocoris peregrinus* and *Thaumastocoris* sp. In the laboratory with some observations on behaviour. **General and Applied Entomology**, v. 36, p. 27-33, 2007.

NOACK, A. E.; KAAPRO, J.; BARTIMOTE-AUFFLICK, K.; MANSFIELD, S.; ROSE, H.A. Efficacy of Imidacloprid in the Control of *Thaumastocoris peregrinus* on *Eucalyptus* scoparia in Sydney, Australia. **Arboriculture & Urban Forestry**.p. 192–196, 2009.

NOACK, A. E.; CASSIS, G.; ROSE, H. A. Systematic revision of efficacy of imidacloprid in the control of *Thaumastocoris* Kirkaldy (Hemiptera: Heteroptera: *Thaumastocoridae*).**Zootaxa**, Auckland, n. 3121, p.1-60, 2011.

OLIVEIRA, M. A. P.; MARQUES, E. J.; TEIXEIRA, V. W.; BARROS, R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre

características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v 30, n 2, pp. 219-224. 2008.

PENTEADO, S. R. C. ; QUEIROZ, D. L. ; BARBOSA, L. R. . Insetos sugadores em plantações florestais. In: BISOGNIN, E. C.; COSTA, E. C. (Org.). **Entomologia Florestal - Aplicada**. 1ed. p. 71-99. 2014.

PEREIRA, J. M.; MELO, A. P. C.; FERNANDES, P. M.; SOLIMAN, E. P. Ocorrência de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Estado de Goiás. **Ciência Rural**: Santa Maria, v. 43, n. 2. Fev. 2013.

PINTO, A. F. P.; BATISTA-FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; WENZEL, I. M. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* ao psilídeo *Diaphorina citri* e compatibilidade do fungo com produtos fitossanitários. **Pesq. agropec. bras**., Brasília, v.47, n.12, p.1673- 1680, dez. 2012

PODEROSO, J. C. M. **Predador Versus Entomopatógeno: *Podisus distinctus* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae) desafiado por *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae***. Tese (Doutorado em Entomologia) Universidade Federal de Viçosa. 2014.

POLANCZYK, R. A.; PATRISSOLI, D.; DALVI, L. P.; GRECO, E. D.; FRANCO, C. R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciênc. agrotec**., Lavras, v. 34, n. 6, p. 1412-1416, nov./dez., 2010

POTRICH, M.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, L. F. A.; PIZZATTO, M.; SILVA, E. R. L.; LUCKMANN, D.; GOUVEA, A.; ROMAN, J. C. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 1783-1792, 2011.

POTRICH, M. ALVES, L. F. A.; LOZANO, E.; ROMAN, J.C.; PIETROWSKI, V.; NEVES, P. M. O. J. Interactions between *Beauveria bassiana* and *Trichograma pretiosum* under laboratory conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata.** n154, p. 213–221, 2015.

QUEIROZ, D. L. Pragas exóticas e potenciais a eucaliptocultura no Brasil. In: Manejo fitossanitário de cultivos agroenergéticos, 2009, Brasília/DF, **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2009. p. 239-249.

RAAFAT, I.; MESHRIF, W. S.; El HUSSEINY, E. M.; EL-HARIRY, M.; SEIF, A.I. *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) Cuticle as a Barrier for *Beauveria bassiana* and

Paecilomyces sp. Infection. **Entomological Society of Southern Africa. Source: African Entomology**, 23(1):75-87.

RAMOS, E. Q.; ALVES, S. B.; DEMÉTRIO, C. G. B.; COSTA, S. C. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, n. 73, p. 21-28, 2004.

RIBEIRO, R. R.; GONÇALVES, L. U.; BARBA, Y. R.; DORINI Jr, J.; BRUN E. J. Crescimento e status nutricional de diferentes espécies de *Eucalyptus* sp. plantados em Dois Vizinhos- Paraná. In: Seminário de Extensão e Inovação da UTFPR. **Anais...** 3º SEI-UTFPR, Dois Vizinhos, 2013.

RIBEIRO, G. T.; SÁ, J. S.; ROLIM, G. S.; CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; MENDONÇA, M. C.; PODEROSO, J. C. M. First report *Thaumastocoris* peregrinus in *Eucalyptus* plantations in the state of Sergipe, Brazil (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Entomologica Americana** 121(1–4):23–26, 2015

SAMUELS, R.I. et al. Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, Palo Alto, v.23, p.269-273, 2002.

SAN ROMAN, L. M.; FIRMINO, A. C.; FURTADO, E. L.; WILCKEN.C. F. Identificação e caracterização de *Fusarium* sp. e *Paecilomyces* sp. entomopatogênicos isolados do percevejo-bronzeado do eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridade). In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba/PR. Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia. **Anais...** Curitiba :Embrapa, 2012.

SANTADINO, M.; LILJESTHROM, G.; COVIELLA, C. Preferencia alimentaria y de oviposición de *Thaumastocorisperegrinus*Carpintero y Dellape (Heteroptera: Thaumastocoridae), chinche del eucalipto, sobre distintas especies de *Eucalyptus* spp. en Argentina. In: CONGRESO FORESTAL MUNDIAL, 2009, Buenos Aires. **Anais.** Buenos Aires: 2009, CD-ROM. Disponível em: http://www.cfm2009.org/es/programapost/resumenes/index.asp.

SANTANA, D.L.Q. Psilídeos em eucaliptos no Brasil. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2005 (**Circular Técnica**, 109), 14 p.

SANTOS, R. S. S.; PRANDO, H. F.; REDAELLI, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G.; ROMANOWSKI, H. P. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em adultos hibernantes de *Oebalus poecilus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**; v.31, n.1, p. 53-155, 2002.

SAVARIS, M.; LAMPERT, S.; PEREIRA, P. R. V. S.; SALVADORI, J. R.. Primeiro registro de *Thaumastocoris peregrinus* para o estado de Santa Catarina, e novas áreas de ocorrência para o Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1874-1876, 2011.

SEAB - Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. Governo do estado do Paraná. **Agrotóxicos no Paraná**. Disponível em: http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp. Acesso em: 17 fev. 2016.

SHRESTHA, G.; ENKGAARD, A.; STEENBERG, T. Laboratory and semi-field evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) against the lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Hemipetera: Aphididae). **Biological Control**, 85. 2015. p. 37-45.

SIKURA, A.I.; SIKURA, L. V.; TREBESAVA, R.M. Influence of white muscardine fungus (*Beauveria bassiana* Balsamo Vuillemin) on the reproductive system of the Colorado potato beetle. **Zashch. Rast. Kichinev**., Rússia, v. 2, p. 89-97, 1972.

SIMI, L. D. **Susceptibilidade das fases do ciclo de vida de *Diatracea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) à ação de fungos entomopatogênicos**. 64 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias-UNESP. Jaboticabal, SP, 2010.

SMANIOTTO, M. A. GARCIA, M. S.; FARIAS, C. R. J.; FINKENAUER, E. Primeiro registro da ocorrência de *Beauveria bassiana* (Balsamo) em adultos de *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Rio Grande do Sul. **Anais...** XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, Curitiba (PR), set. 2012.

SOLLER, L.; GABARDO, C. B.; FERNANDES, B. V.; WILCKEN, C. F.; BARBOSA, L. R. Avaliação de *Cleruchoides noackae* em Laboratório e Campo em Minas Gerais, Brasil. XXV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2014, Goiânia/GO. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Entomologia. **Anais...** Goiânia :Embrapa, 2014.

SOLIMAN, E. P. **Bioecologia do percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) em eucalipto e prospecção de inimigos naturais**. 90f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Proteção de Plantas) Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu, 2010.

SOLIMAN, E.P.; WILCKEN, C. F.; PEREIRA, J. M.; DIAS, T. K.; ZACHÉ, B.; DAL POGETTO, M. F.A.; BARBOSA, L.R. Biology of *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) in diferente eucalyptus species and hybrids. **Phytoparasitica**, n 40, p. 223-230. 2012.

SOLIMAN, E. P. **Controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) com fungos entomopatogênicos**. 98 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2014.

SOPOW, S.; GEORGE, S.; WARD, N. Bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus*: a new Eucalyptus pest in New Zealand. **Surveillance**, Wellington, v.39, p.43-46, 2012.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; PEREIRA, R. M.; ALVES, S. B. Impacto ambiental de entomopatógenos. In: Alves, S. B. (ed) **Controle Microbiano de Insetos**, 2 ed, Piracicaba. FEALQ, 1998. 1163 p.

SOUZA, G. K.; PIKART, F. C.; SERRÃO, J. E.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. FIRST Record of a native Heteropteran preying on the introduced *Eucalyptus* pest, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), in Brazil. **Scientific Notes Florida Entomologist** 95(2), 2012.

SOUZA, G. K. **Morfologia de ovos, glândulas salivares e sistemas digestivo e reprodutor de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**. 59 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa, MG. 2012.

TANZINI, M. R.; ALVES, S. B.; STTEN, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. **Arq. Inst. Biol**., São Paulo, v. 69, p. 65-69, 2002.

TEREZAN LH. **Avaliação de inseticidas químicos e biológicos no controle do percevejo-bronzeado (*Thaumastocoris peregrinus*) (Hemiptera: Thaumastocoridae) em florestas de *Eucalyptus*** [online]. 2009.[cited 2014 abr. 6]. Disponível em: http://www.ipef.br/eventos/2009/rtprotef14/PercBronzeado_IP_Simone.pdf

VALENTE, E. C. N.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V.; PASSOS, E. M.; SILVA, C. C. M.; GUIMARÃES, J. Efeito de fungos entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera:Crambidae). **Rev.Bras.de Agroecologia**. n 9 v 1, p. 248-258. 2014.

WILCKEN, C. F.; BERTI FILHO, E.; OTTATI, A. L. T.; FIRMINO, D. C.; COUTO, E. B. Ocorrência de *Phoracantha recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) em eucalipto no Estado de São Paulo, Brasil. **ScientiaForestalis**, n. 62, p. 149-153, 2002.

WILCKEN, C. F.; COUTO, E. B.; ORLATO, C.; FERREIRA-FILHO, P. J.; FIRMINO, D. C. Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) em florestas de eucalipto no Brasil. **Circular técnica IPEF**, Piracicaba, v. 201, p. 1-11, 2003.

WILCKEN, C. F.; OLIVEIRA, N. C.; SARTÓRIO, R. C. LOUREIRO, E. B.;BEZERRA JR, N; ROSADO-NETO, G. H. Ocorrência de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) em plantações de eucalipto no estado do Espírito Santo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.1, p.113-115, 2008.

WILCKEN, C. F. **Percevejo bronzeado do eucalipto *Thaumastocorisperegrinus*(Hemiptera: Thaumastocoridae): ameaça às florestas de eucalipto brasileiras.** IPEF Programa de proteção florestal - PROTEF/IPEF. Botucatu, SP, Set. 2008. Disponível em: <http://www.ipef.br/protecao/alerta-percevejo.pdf>. Acesso em: 16 set. 2015.

WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P.; SÁ, L. A. N.; BARBOSA, L. R.; DIAS, T. K. R.; FERREIRA-FILHO, P. J.; OLIVEIRA, R. J. R. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, p. 201-206, 2010.

WILCKEN, C.F.; BARBOSA, L.R.; SOLIMAN, E.P.; LIMA, A.C.V.; DE SÁ, L.A.N.; LAWSON, S. Percevejo-bronzeado-do-eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro &Dellapé. IN: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A. **Pragas Introduzidas no Brasil – Insetos e Ácaros**. Ed. Fealq. 1 ed. 908 p. 2015.

WREGE, M.S. ; Barbosa, Leonardo Rodrigues ; SANTOS, F. Gerações de *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro e Dellapé 2006 percevejo bronzeado do eucalipto, no estado do Paraná. In: WORKSHOP SOBRE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS, 2012, Jaguariuna. **Anais...** 2012. v. 1.

XAVIER, L. M. S.; ÁVILA, C. J. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin a *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 50(4): 540-546, dezembro 2006

ZAMBIAZZI, E. V.; CORASSA, J. N.; GUILHERME, S. R.; BONALDO, S. M. Controle biológico in-vitro do percevejo-marrom (*Euschistus heros*) com *Beauveria bassiana*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas** V. 5, N. 3, p. 43, 2011