

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES: ENTOMOPHTHORALES) E DINÂMICA POPULACIONAL DE *Tetranychus evansi* BAKER & PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM *Solanum americanum* Mill.

por

ANA ELIZABETE LOPES RIBEIRO

(Sob Orientação do Professor Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr.)

RESUMO

Neozygites floridana (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) tem sido relatado infectando diversas espécies de Tetranychidae em diferentes locais do mundo. No Brasil, *N. floridana* foi relatado em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard e *Tetranychus urticae* Koch. Epizootias causadas por este patógeno a populações de tetraniquídeos indicam um potencial para uso deste agente no controle biológico. Neste trabalho testou-se a especificidade de cinco isolados de *N. floridana* a diferentes espécies de Tetranychidae; estudou-se a epizootiologia deste fungo e a ação de *Phytoseiulus longipes* Evans (Acari: Phytoseiidae) em condições de casa-de-vegetação, semi-campo e campo sobre *T. evansi* em *Solanum americanum* Mill., além do efeito de alguns fatores bióticos e abióticos na formação de esporos de resistência de *N. floridana*. Os estudos revelaram que os isolados estudados apresentaram maior contaminação, infecção e mumificação para as espécies de ácaros das quais foram obtidos. Os principais inimigos naturais de *T. evansi* em *S. americanum* no Recife-PE foram *N. floridana* e *P. longipes*. O aumento populacional desse tetraniquídeo foi sempre seguido por aumentos na densidade dos inimigos naturais. Verificou-se que, além de estar diretamente ligada à densidade de *T. evansi*, a densidade populacional dos

inimigos naturais é bastante influenciada por fatores climáticos. A época de ocorrência de *N. floridana* esta restrita ao período de maior precipitação, entre os meses de maio-setembro. O predador *P. longipes* teve sua densidade populacional elevada durante o período mais seco do ano, entre outubro e fevereiro. A proporção de ácaros com esporos de resistência foi 0,03%, em um total de 13.516 ácaros avaliados. Todos os ácaros encontrados com esporos de resistência pertenciam à espécie *T. evansi* e ao isolado LQ4. *S. americanum* é um hospedeiro natural para manutenção de populações de *T. evansi* e também permite o desenvolvimento de inimigos naturais como *N. floridana* e *P. longipes* em condições de campo.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, entomopatógeno, tetraniquídeo, epizootiologia, dinâmica populacional, Solanaceae

BIOLOGICAL ASPECTS OF *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES:
ENTOMOPHTHORALES) AND POPULATION DYNAMICS OF *Tetranychus evansi* BAKER
& PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND THEIR NATURAL ENEMIES IN
Solanum americanum Mill.

by

ANA ELIZABETE LOPES RIBEIRO

(Under the Direction of Professor Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr)

ABSTRACT

Neozygites floridana (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) infects several species of Tetranychidae in different locations around the world. In Brazil, *N. floridana* was reported in *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard and *Tetranychus urticae* Koch. Disease caused by this pathogen on tetranychids indicates its potential in biological control programs. In this study was tested the specificity of *N. floridana* isolates to different species of Tetranychidae, the epizootiology of this fungus in a greenhouse, in semi-field and in the field on *T. evansi* in *Solanum americanum* Mill., and evaluated the combination of some biotic and abiotic factors on the formation of resting spores. For all strains studied contamination, infection and mummification was always higher to the species of mites from which the strains were obtained. The main natural enemies of *T. evansi* were *N. floridana* and *Phytoseiulus longipes* Evans. The population increase of tetranychids was always followed by increases in the density of natural enemies. It was found that the population density of natural enemies is strongly influenced by climatic factors and the density of *T. evansi*. The occurrence of *N. floridana* appears to be restricted to periods of highest rainfall from May to September. The predator *P. longipes* had its

highest population density during the dry period of the year, from October to February. The mites with resting spores were only 0.03%, from 13,516 mites evaluated. All mites found with resting spores belonged to the species *T. evansi* and to isolate LQ4. During the dry season we did not observe *N. floridana* structures in adult females of *T. evansi* under conditions of semi-field. *S. americanum* is a natural host for maintenance of populations of *T. evansi* and also allows the development of natural enemies such as *N. floridana* and *P. longipes* in the field.

KEY WORDS: Biological control, entomopathogen, tetranychid, epizootiology, population dynamics, Solanaceae

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES:
ENTOMOPHTHORALES) E DINÂMICA POPULACIONAL DE *Tetranychus evansi* BAKER
& PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM *Solanum*
americanum Mill.

por

ANA ELIZABETE LOPES RIBEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em
Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro - 2009

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES:
ENTOMOPHTHORALES) E DINÂMICA POPULACIONAL DE *Tetranychus evansi* BAKER
& PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM *Solanum
americanum* Mill.

por

ANA ELIZABETE LOPES RIBEIRO

Comitê de Orientação:

Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior – UFRPE

Ítalo Delalibera Junior – ESALQ/USP

RECIFE - PE

Fevereiro – 2009

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES:
ENTOMOPHTHORALES) E DINÂMICA POPULACIONAL DE *Tetranychus evansi* BAKER
& PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM *Solanum
americanum* Mill.

por

ANA ELIZABETE LOPES RIBEIRO

Orientador:

Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior - UFRPE

Examinadores:

Ítalo Delalibera Junior – ESALQ/USP

Gilberto José de Moraes – ESALQ/USP

Carlos H. W. Flechtmann – ESALQ/USP

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Jairo Fonseca Ribeiro e Marilza Ferraz Lopes Ribeiro, exemplos de amor, carinho, respeito, responsabilidade, força, coragem e apoio.

Sem o apoio de vocês eu nada seria. Obrigada por tudo!

Eu dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não ter-me abandonado nos momentos mais difíceis da minha vida.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) juntamente com a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo junto ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE.

Ao professor, orientador e amigo Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior pelo constante apoio, atenção e incentivo.

A minha amiga irmã Andréia Serra Galvão pelo companheirismo, confiança, ajuda e amizade.

Ao professor e grande amigo C.H.W. Flechtmann pelo apoio constante, encorajamento, cuidado, atenção e ensinamentos grandiosos durante esta caminhada.

Aos professores Ítalo Delalibera Jr. e Gilberto José de Moraes pela atenção, ensinamentos e por proporcionarem meu treinamento com *Neozygites floridana* na ESALQ/USP.

Ao professor Sérgio Batista Alves (*in memoriam*) por ter disponibilizado seu laboratório para realização do meu treinamento com *N. floridana*.

Aos professores Jorge Braz Torres, Edmilson Jacinto Marques e José Vargas de Oliveira pela constante atenção.

Ao amigo Vitalis W. Wekesa e Eveline Calderan, pela ajuda e ensinamentos durante o período que eu estive em Piracicaba, SP.

Aos meus irmãos de alma: Edmilson Santos Silva e Jurema Rosa de Queiroz Silva pelo acolhimento, cuidado, atenção e carinho quando eu estive em Piracicaba, SP.

A minha nova família paulista-baiana Aníbal Ramadan Oliveira, Soraia Nassif e Stelinha, pessoas lindas que eu amo e só tenho a agradecer pela presença constante em minha vida.

Aos colegas e amigos que fiz em Piracicaba: Fernando Silva, Geraldo Vasconcelos, Stefania Vital, Vitalis W. Wekesa, Sigrid Rouam, Eveline Calderan, Luciana Oda, Vanessa Duarte, Raphael Castilho, Thiago R. de Castro, Ralf V. de Araújo, Daiane Heloisa Nunes, Graciela Amaral, Fernanda Muniz, Renata Simões, Vinicius Sousa, Lasaro Vanderlei Fernandes da Silva, José Luiz Franceschi Piedade, Vera Lucia Durrer e Josenilton Luis Mandro pela ajuda, companheirismo e alegria proporcionada.

Aos colegas e amigos que fiz em Recife: Andréia S. Galvão, Vaneska Barbosa, Mauricélia F. Almeida, Franklin Magliano, Débora Lima, Josilene Maria de Sousa, Aleuny C. Reis, José Wagner S. Melo, Cleiton A. Domingos, Hugo Zago, Roberta C. Costa, Marta G. C. Araújo, Maria Cleoneide da Silva (Cléo), Eduardo M. Barros, Suerda J. Santana, Adelmo A. D. Santana, Laurici P. Santos, Marcileyne P. Lima, Christian Torres, Marcienne Dantas, Gilberto S. Andrade, Alberto Belo, Hugo Gonçalves, Alicely A. Correia, Ariana L. Meira, Érika Pessoa, Rodrigo Coitinho, Lígia Andrade, Andréa Carvalho, Roberta R. Coelho, Shênia S. Silva, Cecília Sanguinetti, Carla P. O. Assis, Cleia G. V. Silva, Wendel J. T. Pontes, Solange M. França, Cinthia C. M. Silva, Eliana M. Passos, Alexandre Conte, Marcos A.A. Lima, pelos momentos de descontração e apoio.

Aos Senhores Luiz Manuel da Silva e Luis Coelho da Silva pela atenção e ajuda nos trabalhos de campo.

A Darci Martins C. Silva e José Romildo Nunes Angeiras pela atenção, educação e apoio.

A Juliana Pimenta Aguiar, Jacira Andrade, Inês Lucia Aguiar e Dr. Eduardo Ledo pelo apoio e encorajamento nos momentos mais que difíceis para mim.

Aos meus tios e tias, primos e primas pelo carinho e torcida.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
<i>Neozygites</i> – Etimologia e breve histórico sobre a taxonom.....	07
Biologia	07
Fatores climáticos.....	07
Especificidade	08
Perspectivas do uso de <i>Neozygites</i> no controle microbiano	08
LITERATURA CITADA.....	09
2 ESPECIFICIDADE DE <i>Neozygites floridana</i> (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES: NTOMOPHTHORALES) A ALGUMAS ESPÉCIES DE TETRANYCHIDAE	15
RESUMO	16
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
AGRADECIMENTOS.....	26
LITERATURA CITADA.....	26

3	DINÂMICA POPULACIONAL DE <i>Tetranychus evansi</i> BAKER & PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM <i>Solanum americanum</i> Mill.	34
	RESUMO	35
	ABSTRACT	36
	INTRODUÇÃO	37
	MATERIAL E MÉTODOS	39
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
	AGRADECIMENTOS.....	48
	LITERATURA CITADA.....	49
4	AVALIAÇÃO DE FATORES POTENCIALMENTE INDUTORES DA FORMAÇÃO DE ESPOROS DE RESISTÊNCIA DE <i>Neozygites floridana</i> (WEISER & MUMA) EM <i>Tetranychus evansi</i> BAKER & PRITCHARD e <i>Tetranychus urticae</i> KOCH.	57
	RESUMO	58
	ABSTRACT	59
	INTRODUÇÃO	60
	MATERIAL E MÉTODOS	62
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
	AGRADECIMENTOS.....	67
	LITERATURA CITADA.....	68

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O ácaro-vermelho-do-tomateiro, *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, foi relatado nas Américas, onde foi inicialmente confundido com *Tetranychus marianae* McGregor, ilhas do Oceano Índico, África, Ásia e sul da Europa (Saunyama & Knapp 2003, Migeon & Dorkeld 2006). No Brasil, sua presença foi constatada em diversos estados do Nordeste ao Rio Grande do Sul (Baker & Pritchard 1960, Moraes *et al.* 1987, Furtado *et al.* 2006). Existem relatos desse ácaro na literatura em plantas de diferentes famílias, entretanto, é possível que diversos desses relatos correspondam, na realidade, a *T. marianae*, espécie muito próxima de *T. evansi* (Moraes *et al.* 1987). Este ácaro é provavelmente originário da América (Gutierrez & Etienne 1986), e foi relatado como uma séria praga no Nordeste do Brasil em tomateiro (Silva 1954, Ramalho & Flechtmann 1979, Moraes & Flechtmann 1981). Entretanto, atualmente não é mais considerada praga chave para essa cultura. *T. evansi* é uma das pragas mais importantes em tomateiros em algumas regiões da África (Saunyama & Knapp 2003). Este ácaro teve seu primeiro registro na África continental em 1979 no Zimbábue (Blair 1983) e posteriormente foi registrado em diversos outros países africanos como Congo, Etiópia, Quênia, Malawi, Marrocos, Moçambique, Namíbia, Senegal, Tanzânia, Tunísia e Zâmbia (Mingochi & Jensen 1986, El Jaouani 1988, Bolland *et al.* 1998, Bonato 1999, ICIPE 1999). Como este ácaro é exótico na região africana, a ausência de inimigos naturais eficazes, somados ao uso inadequado de produtos químicos são os motivos do seu aumento populacional em tomateiros nessas regiões (Saunyama & Knapp 2003).

O controle químico de *T. evansi* no continente africano em plantios de tomate não é bem sucedido (Sibanda *et al.* 2000). Aplicações de acaricidas são realizadas para o controle de *T.*

evansi em plantios de tomate em várias regiões da África, porém, a eficiência dos produtos é variável e nem sempre satisfatória. Ocorre também o uso inadequado dos produtos, podendo acarretar o aparecimento de resistência nas populações, além de provocar contaminação no ambiente e intoxicação (Konno *et al.* 2001). Com base nesses aspectos é que se estuda a possibilidade de substituir o uso de produtos químicos por inimigos naturais para o controle deste ácaro.

Algumas espécies de ácaros predadores da família Phytoseiidae e Ascidae foram estudados para avaliar seu potencial como inimigos naturais de *T. evansi*: *Asca* sp., *Galendromus* (*Galendromus*) *annectens* (De Leon), *Galendromus* (*Galendromus*) *occidentalis* (Nesbitt), *Galendromus* (*Galendromus*) *porresi* (McMurtry), *Neoseiulus californicus* (McGregor), *Paraphytoseius orientalis* (Narayanan, Kaur & Ghai), *Phytoseius hawaiiensis* Prasad, *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha, *Phytoseiulus macropilis* (Banks), *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot e *Phytoseius guianensis* De Leon. Contudo, nestes estudos, os resultados não foram satisfatórios (Moraes & McMurtry 1985, 1986, Rosa *et al.* 2005, Vasconcelos *et al.* 2008), exceto aqueles obtidos por Furtado *et al.* (2006) e Silva (2007) que verificaram boas perspectivas de controle com *Phytoseiulus longipes* Evans, coletado no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A baixa eficiência daqueles predadores é caracterizada pela reduzida taxa de oviposição e sobrevivência quando alimentados com *T. evansi*. Em contrapartida, Furtado *et al.* (2006) constataram que a população do ácaro predador *P. longipes* obtida no Estado do Rio Grande do Sul e associada a *T. evansi* em solanáceas nativas demonstrou bom potencial de desenvolvimento e reprodução sobre este tetraniquídeo, mostrando-se promissora no controle desta praga. O coccinelídeo *Stethorus tridens* Gordon é outro predador frequentemente associado a altas populações de *T. evansi* (Fiaboe *et al.* 2007). Britto *et al.* (2004) encontraram um importante inimigo natural de *T. evansi*, o fungo *Neozygites floridana* (Weiser & Muma), no

município de Recife-PE, causando epizootias, que reduziram drasticamente a população deste tetraniquídeo.

Vários patógenos como vírus, bactérias e fungos têm sido estudados para o controle de ácaros no mundo (Van Der Geest *et al.* 2000). Os fungos apresentam potencial para utilização no manejo sustentável de pragas, pois o número de aplicações de defensivos pode ser reduzido devido ao fato destes agentes de controle poder reciclar-se no ambiente, produzindo fonte de inóculo nos hospedeiros que infectarão novas gerações da praga, diminuindo a sua população. Outro aspecto importante é que o uso de fungos pode ser conciliado com o uso de ácaros predadores (Samish & Rehacek 1999). Patógenos e outros inimigos naturais (predadores e parasitoides) competem pela mesma fonte de alimento, e sempre existe o risco de um inimigo natural atingir organismos não alvo, quando introduzidos em um novo ambiente. Contudo, Wekesa *et al.* (2007) verificaram que a presença de *N. floridana* parece não afetar a atividade predatória de *P. longipes* contra *T. evansi*. Segundo Wekesa *et al.* (2007) *P. longipes* não é infectado por *N. floridana*. *P. longipes* realiza *grooming* que é a remoção das estruturas infectivas (capiloconídios) do fungo, impedindo o processo de infecção, embora *P. longipes*, pelo tempo e esforço investido neste processo, tenha a sua produção de ovos ligeiramente diminuída. Assim, estes agentes podem ser utilizados simultaneamente no controle biológico de *T. evansi*.

Espécies de fungos da ordem Entomophthorales são reconhecidas por apresentar alta especificidade, apresentando frequentemente restrito número de espécies hospedeiras (Van Der Geest *et al.* 2000). Diferentes espécies de *Neozygites* têm sido encontradas atacando cochonilhas, pulgões, tripes e ácaros (Keller 1997). O ácaro-verde-da-mandioca, *Mononychellus tanajoa* (Bondar), e o ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch, são bastante conhecidos como hospedeiros de fungos do gênero *Neozygites* (Carner 1976, Delalibera *et al.* 1992, Delalibera & Hajek 2004). *Neozygites tanajoe* Delalibera Jr., Humber & Hajek é um importante inimigo natural de *M.*

tanajoa no Brasil (Delalibera Jr. *et al.* 1992) e foi introduzido na África com excelentes resultados no controle biológico clássico de *M. tanajoa* (Hountondji *et al.* 2002). Recentemente, *N. floridana* foi encontrado também, infectando *T. evansi* em plantas de *Solanum americanum* Mill. na Zona da Mata de Pernambuco (Britto *et al.* 2004).

Neozygites – Etimologia e breve histórico sobre a taxonomia

O gênero *Neozygites* e a espécie *Neozygites aphidis* foram descritos por Witlaczil em 1885, para designar um organismo que julgou ser um protozoário da Ordem Gregarinida (*sensu* Storer e Usinger, 1971).

Thaxter, no início de 1888, estudando os patógenos de insetos do grupo Entomophthorales (Zygomycetes) notou que eles estavam todos reunidos em *Empusa* Cohn, 1855 e *Entomophthora* Fresenius, 1856, reagrupou-os em *Empusa*, porém, manteve *Entomophthora* como sub-gênero e erigiu o sub-gênero *Triplosporium*, tendo como tipo a espécie *Empusa fresenii* Nowakowski, 1883 para as espécies cujo desenvolvimento e morfologia diferiam daqueles de *Empusa* e *Entomophthora*.

Thaxter aparentemente desconhecia a publicação em que Witlaczil (1885) descreveu *Neozygites aphidis* como gênero e espécie novos de Protozoa; ele não tinha, na realidade, motivos para consultar a literatura sobre patógenos parasitos de animais. Pouco mais tarde, em 1888, Giard (prozoologista) notou que "en comparant les figures [of *Triplosporium fresenii*] de Thaxter (Pl. 16, Fig. 106-140) avec celles données par Witlaczil [1885] on reconnaîtra, je pense, l'identité générique du *Triplosporium* et du *Neozygites*. De plus, il ne peut, ce me semble, y avoir d'hésitation à rapprocher le parasite en question des Entomophthorées plutôt que des Sporozoaires". (Traduzindo: comparando as figuras [de *Triplosporium fresenii*] de Thaxter (Prancha 16, Fig. 106-140) com aquelas dadas por Witlaczil [1885], reconhecer-se-há, a igualdade

genérica de *Triplosporium* e de *Neozygites*. Além disso, não se deve hesitar, a incluir o parasito em questão entre os Entomophthorae e não entre os Sporozoa).

A sinonímia de *N. aphidis* com *E. fresenii* foi de importância apenas secundária para as considerações taxonômicas deste fungo, tanto nas obras de Nowakowski quanto de Thaxter: *Empusa fresenii* era filiado ao gênero *Empusa* em ambos os trabalhos. Thaxter (1888) reuniu todas as espécies sob *Empusa*, porém, reconheceu o sub-gênero *Entomophthora* para aqueles fungos assim classificados por Nowakowski (1883) e criou o sub-gênero *Triplosporium* (baseado em *Empusa fresenii* Nowakowski e *E. lageniformis* Thaxter). Thaxter (1888) já como que previu que seu sub-gênero *Triplosporium* "will, I think, prove to have generic value..." [traduzindo: terá, eu penso, valor de gênero.]. No entanto, com a decisão de Batko (1964b) de elevar o subgênero de Thaxter para a categoria de gênero e tendo *E. fresenii* como tipo, criou a seguinte situação: *Neozygites* é o nome mais antigo e passa a ser então o nome genérico correto para a nomenclatura, mas, aparentemente desconhecendo o nome proposto por Witlaczil, manteve o nome proposto por Thaxter para este gênero. Remaudière e Keller (1980), nas suas considerações sobre as revisões de Batko (1964a-d) sobre *Entomophthora*, notaram o engano e substituíram *Triplosporium* por *Neozygites*, criando novas combinações para as oito espécies aí incluídas.

Uma ampla revisão da literatura pertinente, anterior a 1981, por Humber e Soper (1981) revelou que poucas publicações mencionam o nome *Neozygites*, e há ampla preferência para o nome *Triplosporium*. Este estabelecimento do nome *Triplosporium* na literatura entre 1965 e 1981 levaram Humber e Soper (1981) a propor a conservação do nome genérico *Triplosporium* e a rejeição de *Neozygites*.

No entanto, na quase totalidade da literatura posterior a 1981, prevalece o nome *Neozygites*, correto do ponto de vista das regras de nomenclatura, é agora também consagrado pelo uso, como bem atestam os recentes trabalhos de Delalibera *et. al.* (2004) e Hajek *et al.* (2005).

Neozygites, de - *zygo*, grego, neutro, = união, fusão; refere-se aos corpos hifais fundidos, formando um gametângio, em uma configuração que lembra uma ponte semelhante a uma canga que une dois bois para o trabalho, + - *ite*, *ites*, grego, masculino, = da natureza de, semelhante a, isto é, parecido com a "ponte" mencionada anteriormente, e - *neo*, grego, = novo, recente, incomum, raro. Ou seja, refere-se à origem dos zigósporos ou esporos de resistência, por uma rara conjugação.

Convém ainda lembrar que o nome *Neozygites* não tem relação com o nome genérico *Zygites*, dado, anos mais tarde, a um molusco marinho, por Kittl em 1891 (*apud* Sepkoski 2000).

Gênero: masculino. Em palavras compostas o elemento final, sendo um substantivo, determina o gênero da palavra. Se o primeiro componente é um substantivo, no caso *zygo* = união ou elemento resultante da união (o gametângio), e o componente final é um adjetivo, no caso *-ites* = da natureza de, o nome composto é um adjetivo, porém, pode ter havido a intenção de usá-lo como um nome (caso presente). Neste caso, o gênero do novo nome composto é aquele do termo que o governa, isto é, *zygo*. (Brown, 1956).

Humber (2007) em uma apreciação sobre reclassificações filogenéticas de fungos patogênicos de invertebrados de Hibbett *et al.* (2007) informa que o filo Zygomycota e a Classe Zygomycetes (sensu Hajek *et al.*, 2005) desapareceram em seu sentido mais amplo e foram substituídos pelo Filo Glomeromycota (para os fungos arbúsculo-vesiculares) e uma série de novos sub-filos ainda não filiados a qualquer filo. Entomophthorales passa para o subfilo Entomophthoromycotina Humber. No entanto, Humber recomenda que até que estudos moleculares esclareçam as relações entre os grupos de fungos, seja mantida a classificação atual de Hajek *et al.* (2005).

Biologia

As espécies de *Neozygites* infectam insetos e ácaros em diferentes estágios de desenvolvimento como larva, ninfa e adulto (Humber *et al.* 1981), são bastante virulentos e penetram via tegumento; no início da infecção aderem no corpo do hospedeiro, se desenvolvem e causam-lhe a morte; posteriormente rompem o tegumento do hospedeiro e produzem conidióforos primários que podem formar conídios secundários ou propágulos infectivos (Alves 1998). Existem também esporos de resistência, cuja função é transpor o período de seca (Delalibera Jr. *et al.* 2000). Elliot *et al.* (2002) estudaram a sobrevivência de *N. floridana*, durante o período de seca no Brasil e observaram esporos em ácaros mumificados, que ficavam no solo ou nas anfractuosidades das plantas. O desenvolvimento de *Neozygites* foi descrito por Carner (1976) em *T. urticae*, na Carolina do Norte, EUA, verificando um ciclo de 3,38 dias a 25 °C.

Fatores climáticos

O fungo *Neozygites* se desenvolve, geralmente, entre 16 a 27 °C, umidade do ar próxima a 100% e geralmente ocorre no início das estações chuvosas (Alves 1998).

A infecção de *M. tanajoa* por *Neozygites* sp. em diversos campos de mandioca foi observada por Delalibera Jr. *et al.* (2000). Este autor constatou que 26 dias antes do surgimento dos ácaros infectados ocorreu elevação da umidade relativa de 70 para 79%, da temperatura de 23,1 para 23,4°C e precipitação de 111 mm. Delalibera *et al.* (1999) constataram que em regiões mais secas *N. floridana* ocorre em níveis baixos e as epizootias ocorrem após as primeiras chuvas.

Smitley *et al.* (1986) avaliaram o número de conídios primários produzidos por *N. floridana* em *T. urticae*, sob várias temperaturas e umidades, e concluíram que temperaturas entre 15 e 26 °C e umidades relativas de 98 a 100% foram as mais propícias para a formação dos conídios e germinação de capiloconídios. Kenneth *et al.* (1972) observaram a esporulação de *N. floridana* em *M. tanajoa* a diferentes temperaturas, e verificaram os maiores índices de produção de

conídios primários e capiloconídios entre 18 a 23 °C. Estes autores verificaram ainda que a umidade do ar mais favorável é de 98 a 100% e fotoperíodo de 12:12.

Especificidade

Isolados de *N. tanajoae* e *N. floridana* foram testados sobre algumas espécies de ácaros fitófagos e verificou-se que todos os isolados causaram algum grau de infecção para *M. tanajoa* e somente dois infectaram *T. urticae* (Delalibera & Hajek 2004). A patogenicidade de *N. tanajoae* também foi testada sobre ácaros fitófagos e predadores em condições de laboratório, sendo *M. tanajoa* infectado, não sendo o mesmo verificado para os predadores *Neoseiulus idaeus* Denmark & Muma e *Typhlodromalus limonicus* (Garman) s.l. (Moraes & Delalibera 1992). A especificidade de *Neozygites* é uma grande vantagem em programas de controle biológico clássico e pode ser usado junto com outros agentes de controle biológico em MIP (Hountondji *et al.* 2002).

Perspectivas do uso de *Neozygites* no controle microbiano

Uma das dificuldades de permanência de *Neozygites* no campo é o fato de que em períodos secos o desenvolvimento do fungo é interrompido, coincidindo com o aumento da população da praga. Inicialmente para a realização de estudos de laboratório, que possam incrementar o conhecimento sobre estes fungos, e proporcionar subsídios para utilização em controle é necessária a preservação adequada destes fungos em laboratório para realização de experimentação. Neste sentido, Delalibera *et al.* (2004) estudaram a preservação de culturas de hifas de *N. tanajoae* e *N. floridana*, através do método de crioproteção, testando diferentes temperaturas, tempo e agentes de preservação. Estes autores verificaram que *N. tanajoae* difere de *N. floridana* na capacidade de resistir a baixa temperatura e constataram que culturas *in vitro* de dois isolados de *N. floridana* permaneceram viáveis a 4 °C por 47 dias, porém as culturas de *N. tanajoae* não sobrevivem nessa temperatura por mais de quatro dias. Obtiveram êxito em preservar *N. tanajoae* a temperaturas de -80 a -196 °C, utilizando como agentes crioprotetores

trehalose a 1% e sulfóxido dimetílico a 2%. O método de crioproteção para *N. tanaioae* não é apropriado e não é usual para a maioria dos fungos.

Vários estudos vêm sendo realizados também com o objetivo de encontrar meios para produzir *Neozygites* sp. em larga escala para comercialização (Delalibera Jr. *et al.* 2003), contudo até o momento a produção de esporos infectivos só foi possível *in vivo*.

O objetivo deste trabalho foi testar a especificidade de isolados de *N. floridana* a espécies de ácaros fitófagos, estudar a epizootiologia em *T. evansi* e seus inimigos naturais em condições de telado, campo e semi-campo, bem como encontrar uma condição adequada para formação de esporos de resistência para *N. floridana*.

Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos entomopatogênicos, p.289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, Fealq, 1163p.
- Baker, E.W. & A.E. Pritchard. 1960.** The tetranychoid mites of Africa. *Hilgardia* 29: 455-574.
- Batko, A. 1964a.** Remarks on the genus *Entomophthora* Fresenius, 1856 non Nowakowski, 1883 (Phycomycetes: Entomophthoraceae). *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* 12: 319-321.
- Batko, A. 1964b.** On the new genera *Zoophthora* gen.nov. *Triplosporium* (Thaxter) gen.nov. and *Entomophaga* gen.nov. (Phycomycetes: Entomophthoraceae). *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* 12: 319-321.
- Batko, A. 1964c.** Remarks on the genus *Lamia* Nowakowski 1883 vs. Nieuwland 1916 (Phycomycetes: Entomophthoraceae). *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* 12: 399-402.
- Batko, A. 1964d.** Some new combinations in the fungus family Entomophthoraceae (Phycomycetes). *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* 12: 403-406.
- Blair, B.W. 1983.** *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae): A new pest of tobacco in Zimbabwe. Coresta Phytopathol. Agron. Study Group, Bergerac, France. 1-6.
- Bolland, H.R., J. Gutierrez & C.H.W. Flechtmann. 1998.** World catalog of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Leiden, Brill, 392p.

- Bonato, O. 1999.** The effect of temperature on life history parameters of *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 23:11-19.
- Brown, R.W. 1956.** Composition of scientific words. Washington, Smithsonian Institution Press, 882p.
- Britto, E.P.J., K.K.M. Fiaboe, M.G.C. Gondim Jr., G.J. Moraes, I. Delalibera Jr. & M. Knapp. 2004.** Epizootia de *Neozygites* aff. *floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) em Recife. In: XIV Congresso de Iniciação Científica. Recife, PE. CD-ROM.
- Carner, G.R. 1976.** A description of the cycle of *Entomophthora* sp. in the two-spotted spider mite. *J. Invertebr. Pathol.* 28: 245-254.
- Cohn, F. 1855.** *Empusa muscae* und die Krankheit der Stubenfliegen. *Hedwigia* 1: 57-61.
- Delalibera Jr., I. & A.E. Hajek. 2004.** Pathogenicity and specificity of *Neozygites tanajoae* and *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) isolates pathogenic to the cassava green mite. *Biol. Control* 30: 608-616.
- Delalibera Jr., I., A.E. Hajek & R.A. Humber. 2003.** Use of cell culture media for cultivation of the mite pathogenic fungi *Neozygites tanajoae* and *N. floridana*. *J. Invertebr. Pathol.* 84: 119-127.
- Delalibera Jr., I., A.E. Hajek & R.A. Humber. 2004.** *Neozygites tanajoae* sp. nov., a pathogen of the cassava green mite. *Mycologia* 96: 1002-1009.
- Delalibera Jr., I., G.J. Moraes & D.R.S. Gomez. 1999.** Epizootias de *Neozygites floridana* (Zygomycetes, Entomophthorales e dinâmica populacional de ácaros fitoseídeos predadores de *Mononychellus tanajoa* (Acari, Phytoseiidae e Tetranychidae) na Bahia *Rev. Bras. Entomol.* 43: 287-291.
- Delalibera Jr., I., D.R.S. Gomez, G.J. Moraes, J.A. Alencar & N.F. Araújo. 1992.** Infection of *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae) by the fungus *Neozygites* sp. (Entomophthorales) in Northern Brazil. *Fla. Entomol.* 75: 145-147.
- Delalibera Jr., I., G.J. Moraes, S.L. Lapointe, C.A.D. Silva & M.A. Tamai. 2000.** Temporal variability and progression of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) in populations of *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 29: 523-536.
- El Jaouani, N. 1988.** Contribution a la connaissance des acariens phytophages au Maroc et étude bio-écologique de *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) Mémoire Diplome d'Ingenieur em Agronomie. Inst. Agron. Et Veterin. Hassan II, Rabat.

- Elliot, S.L., J.D. Mumford & G.J. Moraes. 2002.** The role of resting spores in the survival of the mite-pathogenic fungus *Neozygites floridana* from *Mononychellus tanajoa* during dry periods in Brazil. *J. Invertebr. Pathol.* 81: 148-157.
- Fiaboe, K.K.M., M.G.C. Gondim Jr., G.J. Moraes, C. Ogot, K.P. Okach & M. Knapp. 2007.** Surveys for natural enemies of the tomato red spider mite *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) in northeastern and southeastern Brazil. *Zootaxa* 1395: 33-58.
- Fresenius, G. 1856.** Notiz Insekten-Pilze betreffend. *Bot. Zeitg.* 14: 882-883.
- Furtado, L.P., G.J. Moraes, S. Kreiter & M. Knapp. 2006.** Search for effective natural enemies of *Tetranychus evansi* in south and southeast Brazil. *Exp. Appl. Acarol.* 40: 157-174.
- Giard, A. 1888.** Note sur deux types remarquables d'Entomophthorées, *Empusa fresenii* Now. et *Basidiobolus ranarum* Eid. suivie de la description de quelques espèces nouvelles. *Comptes Rendus des Seances de la Société à Paris* 40: 783-787.
- Gutierrez, J. & J. Etienne. 1986.** Les Tetranychidae de l'île de la Réunion et quelques-uns de leurs prédateurs. *Agron. Trop.* 41: 84-91.
- Hajek, A.E., M.L. McManus & I. Delalibera Jr. 2005.** Catalogue of Introductions of Pathogens and Nematodes for Classical Biological Control of Insects and Mites. U.S. Dept. Agric. Forest Health Technology Enterprise Team, 2005-5, 59 p.
- Hibbett, D.S., M. Binder, J.F. Bischoff, M. Blackwell, P.F. Cannon, O.E. Eriksson, S. Huhndorf, T. James, P.M. Kirk, R. Lücking, H.T. Lumbsch, F. Lutzoni, P.B. Matheny, D.J. McLaughlin, M.J. Powell, S. Redhead, C.L. Schoch, J.W. Spatafora, J.A. Stalpers, R. Vilgalys, M. C. Aime, A. Aptroot, R. Bauer, D. Begerow, G.L. Benny, L.A. Castlebury, P.W. Crous, Y-C. Dai, W. Gams, D.M. Geiser, G.W. Griffith, C. Gueidan, D.L. Hawksworth, G. Hestmark, K. Hosaka, R.A. Humber, K.D. Hyde, J.E. Ironside, U. Kõljalg, C.P. Kurtzman, K-H. Larsson, R. Lichtwardt, J. Longcore, J. Miadlikowska, A. Miller, J-M. Moncalvo, S. Mozley-Standridge, F. Oberwinkler, E. Parmasto, V. Reeb, J.D. Rogers, C. Roux, L. Ryvarden, J.P. Sampaio, A. Schübler, J. Sugiyama, R.G. Thorn, L. Tibell, W.A. Untereiner, C. Walker, Z. Wang, A. Weir, M. Weiss, M.M. White, K. Winka, Y-J. Yao & N. Zhang. 2007.** A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycol. Res.* 111: 509-547.
- Hountondji, F.C.C., J.S. Yaninek, G.J. Moraes & G.I. Oduor. 2002.** Host specificity of the cassava green mite pathogen *Neozygites floridana*. *Biol. Control* 47: 61-66.
- Humber, R.A., G.J. Moraes & J.M. Santos. 1981.** Natural infection of *Tetranychus evansi* (Acarina: Tetranychidae) by a *Triplosporium* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) in Northeastern Brazil. *Entomophaga* 26: 421-425.
- Humber, R.A. 2007.** Recent phylogenetically based reclassifications of fungal pathogens of invertebrates. Disponível em < <http://www.sipweb.org/fungi/humber.pdf>.> Acesso em: 24 set. 2008.

- Humber, R.A. & R.S. Soper. 1981.** Proposal to conserve the entomopathogenic fungal genus *Triplosporium* (Thaxter) Batko against *Neozygites* Witlaczil (Entomophthorales). *Taxon* 30: 353-357.
- ICIPE. 1999.** Development of environmentally friendly management methods for red spider mites in small-holder tomato production systems in eastern and southern Africa. Report of the 2nd Planning Workshop. Harare, 31 August-4 September 1999.
- Keller, S. 1997.** The genus *Neozygites* (Zygomycetes: Entomophthorales) with special reference to species found in tropical regions. *Sydowia* 43: 39-122.
- Kenneth, R.W., U. Gerson & H.N. Plaut. 1972.** Observations and experiments on *Triplosporim floridanum* (Entomophthorales) attacking spider mites in Israel. *J. Invertebr. Pathol.* 19: 366-369.
- Konno, R.H., C.R. Franco & C. Omoto. 2001.** Suscetibilidade de Populações de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) a Acaricidas Organostânicos em Citros. *Sci. Agric.* 4: 703-709.
- Migeon, A., & F. Dorkeld. 2006.** Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. Disponível em: <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>
- Mingochi, D.S. & A. Jensen. 1986.** Pests and diseases in tomato cultivars in Zambia, their seasonal occurrence and possible control. *Acta Hort.* 190: 131-138.
- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechtmann. 1981.** Ácaros fitófagos do nordeste do Brasil. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 16: 177-186.
- Moraes, G.J. & I. Delalibera Jr. 1992.** Specificity of a strain of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) to *Monoychellus tanajoa* (Acari:Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 14: 89-94.
- Moraes, G.J. & J.A. McMurtry. 1985.** Comparison of *T. evansi* and *T. urticae* (Acari: Tetranychidae) as prey for eight species of phytoseiid mites. *Entomophaga* 30: 393-397.
- Moraes, G.J. & J.A. McMurtry. 1986.** Suitability of the spider mite *Tetranychus evansi* as prey for *Phytoseiulus persimilis*. *Entomol. Exp. Appl.* 40: 109-115.
- Moraes, G.J., J.A. McMurtry & E.W. Baker. 1987.** Redistribution and distributions of the spider mites *Tetranychus evansi* and *T. marianae*. *Acarologia* 28: 333-343.
- Nowakowski, L. 1883.** Entomophthoreae. Przyczynek do znajmosci pasarzyntnych grzybkow sprawiajacych pomor owadow. *Pamietn. Akad. Umiejjetn. Krakowie, Wydz.Mat.-Przyr.* 8: 153-183.

- Ramalho, F.S. & C.H.W. Flechtmann. 1979.** Níveis de infestação de *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, 1960 em diferentes fases de desenvolvimento do tomateiro. Rev. Agric. Piracicaba, 54: 51-56.
- Remaudière, G. & S. Keller. 1980.** Revision systématique des genres d'Entomophthoraceae à potentialité entomopathogène. Mycotaxon 11: 323-338.
- Rosa, A.A., M.G.C. Gondim Jr., K.K.M. Fiaboe, G.J. Moraes & M. Knapp. 2005.** Predaceous arthropods associated with *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on native solanaceous plants of coastal Pernambuco State, Brazil. Neotrop. Entomol. 34: 689-692.
- Samish, M. & J. Rehacek. 1999.** Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. Annu. Rev. Entomol. 44: 159-82.
- Saunyama, I.G.M. & M. Knapp. 2003.** The effects of pruning and trellising of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.) on red spider mite (*Tetranychus evansi* Baker & Pritchard) incidence and crop yield in Zimbabwe. Afr. Crop Sci. J. 11: 269-277.
- Sepkoski Jr. J.J. 2002.** A compendium of fossil marine animal genera. Bull. Am. Paleontol. 363: 1- 560.
- Sibanda, T., H.M. Dobson, J.F. Cooper, W. Manyangaririwa & W. Chimba. 2000.** Pest management challenges for smallholder vegetable farms in Zimbabwe. Crop Prot. 19: 807-815.
- Silva, P. 1954.** Um novo ácaro novo ao tomateiro na Bahia (*Tetranychus marianae* McGregor, 1950-Acarina). Bol. Inst. Biol. Bahia 1: 18-37.
- Silva, R.F. 2007.** *Phytoseiulus longipes*: um eficiente agente de controle de *Tetranychus evansi* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) na cultura do tomateiro. Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 59 p.
- Smitley, D.R., W.M. Brooks & G.G. Kennedy. 1986.** Environmental effects on production of primary and secondary conidia, infection, and pathogenesis of *Neozygites floridana*, a pathogen of twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. J. Invertebr. Pathol. 47: 325-332.
- Storer, T.I. & R.L. Usinger. 1971.** Zoologia Geral. São Paulo, Nacional, 713p.
- Thaxter, R. 1888.** The Entomophthorae of the United States. Mem. Boston Soc. Nat. Hist. 4: 133-201.
- Van Der Geest, L.P.S., S.L. Elliot., J.A.J. Breeuwer & E.A.M. Beerling. 2000.** Diseases of mites. Exp. Appl. Acarol. 24: 497-560.

- Vasconcelos, G.J.N., G.J. Moraes, I. Delalibera Jr. & M. Knapp. 2008.** Life history of the predatory mite *Phytoseiulus fragariae* on *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) at five temperatures. *Exp. Appl. Acarol.* 44: 27-43.
- Wekesa, V.W., G.J. Moraes, M. Knapp & I. Delalibera, Jr. 2007.** Interactions of two natural enemies of *Tetranychus evansi*, the fungal pathogen *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) and the predatory mite, *Phytoseiulus longipes* (Acari: Phytoseiidae). *Biol. Control* 41: 408-414.
- Witlaczil, E. 1885.** *Neozygites aphidis*, eine neue Gregarinide. *Arch. Mikrosk. Anat.* 24: 599-603.

CAPÍTULO 2

ESPECIFICIDADE DE *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES: ENTOMOPHTHORALES) A ALGUMAS ESPÉCIES DE TETRANYCHIDAE¹

ANA E. L. RIBEIRO², MANOEL G.C. GONDIM JR.² & ITALO DELALIBERA JR³

²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Av. Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

¹Ribeiro, A.E.L., Gondim Jr., M.G. & Delalibera Jr., I. Especificidade de *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) a algumas espécies de Tetranychidae. *Journal Invertebrate Pathology*.

RESUMO – *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) tem sido relatado infectando diversas espécies de Tetranychidae em diferentes locais do mundo. No Brasil, *N. floridana* foi relatado em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard e *Tetranychus urticae* Koch. Epizootias causadas por este patógeno a populações de tetraniquídeos indicam potencial de uso deste agente no controle biológico. Contudo, a patogenicidade, especificidade e virulência de espécies e isolados de *Neozygites* ainda necessitam ser avaliadas. O objetivo deste trabalho foi verificar a patogenicidade e especificidade de *N. floridana* a diversas espécies de Tetranychidae. Foram testados cinco isolados de *N. floridana*, obtidos de *T. urticae*, *T. evansi* e *Tetranychus ludeni* Zacher sobre populações de *Mononychelus tanajoa* (Bondar), *Schizotetranychus sacharum* Flechtmann & Baker, *Tetranychus abacae* Baker & Pritchard e *Tetranychus armipenis* Flechtmann & Baker, além das espécies das quais o fungo foi isolado. Ácaros mumificados foram colocados em discos de folha das plantas hospedeiras de cada tetraniquídeo, e após 24 h ácaros sadios foram transferidos para os discos. Avaliaram-se a contaminação, infecção e mumificação sete dias após o confinamento. Em geral os isolados de *N. floridana* foram virulentos somente às espécies de tetraniquídeos nas quais estes foram coletados. Nenhum isolado foi patogênico à *T. abacae* e *S. sacharum*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, fungo entomopatogênico, ácaro fitófago, *Tetranychus*

SPECIFICITY OF *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) (ZYGOMYCETES:
ENTOMOPHTHORALES) TO SOME SPECIES OF TETRANYCHIDAE

ABSTRACT – *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) is pathogenic to several species of Tetranychidae worldwide. In Brazil, *N. floridana* was reported in *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard and *Tetranychus urticae* Koch. Epizootics caused by this pathogen to populations of tetranychids indicate the potential use of this agent in biological control programs. However, the pathogenicity, virulence and specificity of species and isolates of *Neozygites* need to be assessed. The objective of this study was to determine the pathogenicity of the fungus to various species of Tetranychidae. We tested five strains of *N. floridana* obtained from *T. urticae*, *T. evansi* and *Tetranychus ludeni* Zacher on populations of *Mononychellus tanajoa* (Bondar), *Schizotetranychus sacharum* Flechtmann & Baker, *Tetranychus abacae* Baker & Pritchard and *Tetranychus armipenis* Flechtmann & Baker, in addition to the species of mites from which the fungus was isolated. Mummified mites were placed in leaf discs of the host plant of each tetranychid, and 24 hours later healthy mites were transferred to the discs. We evaluated the contamination, infection and mummification seven days after the confinement. In general, *N. floridana* isolates were only virulent to the spider mite species from which they were isolated, none of the isolates were pathogenic to *T. abacae* and *S. sacharum*.

KEY WORDS: Microbiological control, entomophatogenic fungi, phytophagous mite,
Tetranychus

Introdução

Neozygites floridana (Weiser & Muma) (*Entomophthora* sin. *Triplosporium*) tem sido relatado freqüentemente infectando ácaros tetraniquídeos, mas não tem sido encontrado em nenhum outro grupo de artrópodes. Este fungo foi descrito como patógeno do ácaro texano dos citros, *Eutetranychus banksi* (McGregor) (Selhime & Muma 1966). *N. floridana* infecta diversas populações de *Tetranychus urticae* Koch em várias partes do mundo (Brandenburg & Kennedy 1982, Boykin *et al.* 1984, Nordengen & Klingen 2006), e também foi relatado infectando *Bryobia* sp. (Mietkiewski *et al.* 1993), *Oligonychus pratensis* (Banks) (Dick & Buschman 1992, Dick *et al.* 1992), *Panonychus citri* (McGregor) (Fisher 1951), *Tetranychus ludeni* Zacher (Rameseshiah 1971) e *Tetranychus tumidus* Banks (Saba 1971).

Neozygites tanajoae Delalibera Jr., Humber & Hajek é um importante inimigo natural de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) no Brasil e foi introduzido na África para o controle biológico clássico desse tetraniquídeo (Delalibera & Hajek 2004). *N. tanajoae* foi diferenciado de *N. floridana* por Delalibera *et al.* (2004), sendo a sua especificidade a *M. tanajoa* um dos caracteres utilizados para separar as duas espécies. Embora *N. floridana* já tenha sido relatado infectando diversas espécies de Tetranychidae, ainda não se conhece a amplitude de hospedeiros deste fungo às diferentes espécies de tetraniquídeos. Questiona-se, inclusive, se *N. floridana* constitui-se um complexo de espécies. Foram encontrados isolados de *N. floridana* na Flórida causando altos índices de infecção em *E. banksi* (35 a 60 %), contudo, estes mesmos isolados promoviam apenas 20 e 17% de infecção em *Eotetranychus sexmaculatus* (Riley) e *P. citri*, respectivamente (Selhime & Muma 1966).

N. floridana (= *Triplosporium*) foi encontrado infectando *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard em áreas de produção de tomate *Solanum esculentum* Dunal. em Petrolina, Nordeste do Brasil (Humber *et al.* 1981). Recentemente, esse patógeno foi encontrado infectando *T. evansi* em

plantas de *Solanum americanum* Mill. na Zona da Mata de Pernambuco, Brasil (Britto *et al.* 2004). *T. evansi* foi introduzido na África e tornou-se uma das mais importantes pragas do tomateiro em vários países daquele continente (Saunyama & Knapp 2003). No Brasil, poucos estudos foram conduzidos até o momento, com isolados de *N. floridana* para o controle de *T. evansi* ou *T. urticae*. Levantamentos preliminares realizados sugerem que *N. floridana* seja um inimigo natural importante de *T. evansi*, indicando seu potencial para introdução no continente africano para controle biológico clássico (Fiaboe 2007). Além do uso de *N. floridana* para controle de *T. evansi*, este patógeno também apresenta perspectivas no controle de *T. urticae* em vários países, uma vez que este ácaro apresenta grande capacidade de desenvolvimento de resistência a acaricidas químicos, sendo considerada uma das principais pragas das culturas hortícolas em todo o mundo (Cranham & Helle 1985).

Nesse estudo, foram realizados testes de patogenicidade de isolados de *N. floridana* obtidos de *T. urticae*, *T. evansi* e *T. ludeni* sobre diversas espécies de Tetranychidae.

Material e Métodos

Obtenção e Criação dos Ácaros. Populações de *M. tanajoa*, *Schizotetranychus sacharum* Flechtmann & Baker, *Tetranychus abacae* Baker & Pritchard, *T. evansi*, *T. ludeni* e *T. urticae* utilizadas nos experimentos com isolados LQ1, LQ2 e LQ4 de *N. floridana* foram coletadas em plantas de *Manihot esculenta* Krantz, *Saccharum officinarum* L., *Musa* sp., *S. esculentum*, *Gossypium hirsutum* L. e *Canavalia ensiformes* (L.), na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, SP, Brasil. *M. tanajoa*, *Tetranychus armipenis* Flechtmann & Baker, *T. abacae*, *T. evansi* e *T. urticae* utilizados nos experimentos com os isolados N1 e N2 foram coletados em plantas de *M. esculenta*, *Sida* sp., *Musa* sp., *S. americanum* e *C. ensiformes*, na Universidade Federal Rural de Pernambuco

(UFRPE), Recife, PE, Brasil. *T. ludeni* também utilizado nos experimentos com os isolados N1 e N2 foi coletado em *Nicandra physaloides* (L.) no município de Camocim de São Felix, PE, Brasil.

Vasos com capacidade para 3 litros foram preenchidos com solo e húmus de minhoca, na proporção de 3:1 onde foram cultivadas as plantas em que os ácaros foram coletados no campo, exceto *Musa* sp. cujas folhas foram obtidas diretamente no campo. As plantas foram infestadas com os ácaros e quando estavam em senescência ou com alta infestação a criação foi transferida para novas plantas. As plantas com os ácaros foram mantidas em casa-de-vegetação em Piracicaba nas condições de 34 ± 10 °C e 40 ± 10 % U.R. e em Recife, 35 ± 10 °C e 80 ± 10 % U.R. e fotoperíodo natural durante os meses de junho a novembro.

Obtenção e Preservação dos Ácaros Mumificados. A origem, coordenada geográfica e a época de coleta dos isolados são apresentadas na Tabela 1. Ácaros mumificados foram coletados em campo e armazenados em frascos de vidro, contendo camadas de sílica gel e algodão e mantidos a 5 °C ou -10 °C nos Laboratórios de Acarologia da ESALQ/USP e UFRPE, respectivamente.

Patogenicidade dos Isolados LQ1, LQ2 e LQ4 de *N. floridana* sobre Seis Espécies de Tetranychidae. A patogenicidade dos isolados LQ1, LQ2 e LQ4 a *M. tanajoa*, *S. sacharum*, *T. abacae*, *T. evansi*, *T. ludeni* e *T. urticae* foi avaliada em discos de folhas do respectivo hospedeiro. Uma múmia de cada isolado foi colocada individualmente ao centro de discos de folhas de um centímetro de diâmetro de cada hospedeiro. O disco foi colocado sobre um disco de espuma de polietileno de 1 cm de espessura e 8 cm de diâmetro umedecido com água destilada e este conjunto foi colocado no interior de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro. A placa foi fechada para garantir elevada umidade relativa e colocada no interior de câmara climatizada, a 25 °C no escuro para promover a conidiogênese do fungo, durante 24 h. Após este período, transferiram-se os discos de folha para uma lâmina de microscopia para confirmação da esporulação sob microscópio, retornando-as em seguida para as placas de Petri; apenas os discos

de folhas contendo no mínimo 300 capiloconídios (estimado visualmente) foram usados para instalação do teste de patogenicidade. Em seguida, 20 fêmeas de cada espécie de ácaro foram transferidas para cada disco de folha de seus respectivos hospedeiros. As placas foram mantidas por 24 h em câmaras climatizadas, nas condições de 25 °C, 12 h de escotofase e 60 % de U.R. Finalmente, as fêmeas foram transferidas para novos discos de folha de 2,1 cm de diâmetro sobre discos de espuma umedecida e retornaram para o interior da câmara climatizada, onde permaneceram por até 7 dias. Os discos de folha das arenas foram trocados no terceiro dia de avaliação. Após o final da avaliação, os ácaros mortos foram montados em lâmina com azul de Aman para observação ao microscópio. A contaminação e a infecção foram determinadas considerando-se apenas a percentagem de ácaros com capiloconídios aderidos e ácaros mortos com corpos hifais no seu interior, respectivamente, em relação ao total de ácaros da repetição. Para a mumificação consideraram-se os ácaros visualmente inchados e de coloração escura. A mortalidade confirmada acumulada refere-se ao número acumulado, durante o período de sete dias, de ácaros que apresentaram exteriorização do patógeno (mumificação) mais os ácaros que não mumificaram, mas que apresentaram no seu interior corpos hifais. Seis repetições foram utilizadas para cada espécie de planta e isolado. O controle foi feito avaliando-se a mortalidade diária das fêmeas na ausência do fungo.

Patogenicidade dos Isolados N1 e N2 de *N. floridana* sobre Seis Espécies de Tetranychidae.

Este bioensaio foi realizado seguindo o método descrito acima. Duas múmias de *T. evansi* e *T. ludeni* foram colocadas por disco de folhas de dois centímetros de diâmetro de *M. esculenta*, *Sida* sp., *Musa* sp., *S. americanum*, *C. ensiformes* e *N. physaloides*. As placas contendo os discos de folhas foram mantidas fechadas, a 21 °C no escuro para promover a conidiogênese do fungo. Após a esporulação, 20 fêmeas adultas de *M. tanajoa*, *T. armipenis*, *T. abacae*, *T. evansi*, *T. urticae* ou *T. ludeni* foram transferidas para cada disco de folha de suas respectivas plantas

hospedeiras. Utilizaram-se 10 repetições para cada espécie de planta, ácaro e isolado. As fêmeas permaneceram nestes discos de folhas por até 7 dias, em câmara climatizada, com temperatura de 21 °C, 60 % de U.R. e 12 h de escotofase. A avaliação foi feita como no bioensaio anterior, contudo não foi avaliada a contaminação.

Análise Estatística. As porcentagens de contaminação, infecção e mumificação dos isolados LQ1, LQ2 e LQ4 entre as seis espécies de ácaros dentro de um mesmo parâmetro de cada isolado, foram submetidas a teste de normalidade (Kolmogorov D: normal test) e homogeneidade de variância (Bartlett's test). Em seguida, estes parâmetros foram comparados mediante análise de variância (ANOVA) utilizando o PROC ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para os isolados N1 e N2, as comparações dos mesmos parâmetros exceto contaminação, foram realizadas pelo teste *t*. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS (SAS Institute 1999-2001).

Resultados e Discussão

A porcentagem de ácaros que se contaminaram com capiloconídios variou de 64,0 % para *T. evansi* a 11,4 % para *S. sacharum* com o isolado LQ1 ($F_{5, 28}=6,77$; $P < 0,0005$); 59,0 % para *T. evansi* a 33,5 % para *T. abacae* com o isolado LQ2 ($F_{5, 27}=1,63$; $P < 0,0005$); e 58,7 % para *T. ludeni* a 42,5 % para *T. abacae* com o isolado LQ4 ($F_{5, 29} = 0,63$; $P < 0,0005$) (Tabela 2). A contaminação dos isolados foi sempre maior para o hospedeiro no qual ele foi obtido no campo. Os isolados LQ1 ($F_{4, 45}=95,32$; $P < 0,0005$), LQ2 ($F_{5, 48}=24,68$; $P < 0,0005$) e LQ4 ($F_{3, 20}=11,17$; $P < 0,0005$) infectaram *T. urticae* ($F_{2, 33}=35,10$; $P < 0,0005$), *T. evansi* ($F_{2,35}= 40,95$; $P < 0,0005$) e *M. tanajoa*. A porcentagem de infecção destes isolados foi maior para a espécie da qual cada isolado foi obtido no campo, exceto para LQ4 que não apresentou diferença entre *T. evansi* e *T. urticae*. Todos os isolados testados LQ1 ($F_{4, 45}= 49$; $P < 0,0005$), LQ2 ($F_{5, 48}=7,91$; $P < 0,0005$) e

LQ4 ($F_{3, 20}=1,77$; $P < 0,0005$) causaram mumificação em *T. evansi* e *T. urticae*. A maior porcentagem de mumificação foi observada no isolado LQ1 em *T. urticae* (47,9%) ($F_{2, 34}= 51,92$; $P < 0,0005$). A mortalidade do controle foi sempre inferior a 10% para as espécies estudadas.

A mortalidade de *T. urticae* foi verificada a partir do quarto dia após a contaminação destes com o isolado LQ1, atingindo valor de 59,5% ao final do experimento, enquanto este mesmo isolado causou mortalidade muito baixa a *T. evansi* (Fig. 1A). O isolado LQ2 promoveu a morte de 53,4% para *T. evansi*, enquanto para *T. urticae* a mortalidade foi de apenas 12,3% (Fig. 1B). A morte de *T. urticae* e *T. evansi* por LQ4 também se iniciou no quarto dia, atingindo ao final do experimento valores de 36,5% e 23,2%, respectivamente (Fig. 1C).

O isolado N1 causou 86,5%, 14,0% e 2,5% de infecção para *T. evansi*, *T. armipenis* e *T. urticae*, respectivamente, tendo as médias diferido entre si, ($F_{5, 59}=150,65$; $P < 0,0001$) (Tabela 3). O isolado N2 causou 84,0; 47,5 e 12,5% de infecção para *T. ludeni*, *T. armipenis* e *T. evansi*, respectivamente ($F_{5,59}=32,76$; $P < 0,0001$). Este mesmo isolado também causou elevada mumificação em *T. ludeni* e *T. evansi* ($F_{5, 59}=55,4$; $P < 0,0001$) (Tabela 3). A mumificação causada pelo isolado N1 foi maior para *T. evansi* e apenas de 1% em *T. urticae* ($F_{5,59}=15,32$; $P < 0,0001$). Estes isolados não infectaram e mumificaram *T. abacae* e *M. tanaioa*. A mortalidade do controle nestes bioensaios foi inferior a 10% para as espécies estudadas.

A mortalidade de *T. evansi* pelo isolado N1 foi verificada a partir do quarto dia após a contaminação, enquanto que a mortalidade em *T. urticae* e *T. armipenis* só ocorreu após o quinto e sexto dias, respectivamente (Fig. 2A). O isolado N2 provocou a morte dos ácaros a partir do quinto dia nas espécies *T. evansi*, *T. armipenis* e *T. ludeni*, mas a maioria dos ácaros morreu no sexto e sétimo dias após a contaminação (Fig. 2B).

Os estudos revelaram que os cinco isolados de *N. floridana* apresentam alta especificidade às espécies de tetraníquídeos. Todos isolados estudados apresentaram contaminação, infecção e

mumificação sempre maior para as espécies de ácaros das quais os isolados foram obtidos. Selhime & Muma (1966) verificaram que um isolado de *N. floridana* (= *Entomophthora floridana*) apresentou alto grau de especificidade a *E. banksi*. Embora já tenha sido verificado que espécies do gênero *Neozygites* aparentam possuir elevado grau de especificidade na relação com seus hospedeiros (Van Der Geest *et al.* 2000), nenhum estudo específico havia sido feito para demonstrar este atributo em *N. floridana*. A única espécie deste gênero que já tinha sido investigada quando a especificidade foi *N. tanajoae*. Este fungo infecta e mumifica somente o ácaro verde da mandioca, *M. tanajoa*, não sendo patogênica a outras espécies de Tetranychidae, como *O. gossypii* e *T. urticae* (Delalibera & Hajek 2004), *Tetranychus bastosi* Tuttle, Baker & Sales, além de duas espécies de ácaros predadores (Moraes & Delalibera 1992).

Um aspecto importante no eventual uso de fungos da ordem Entomophthorales no controle de ácaros é que este agente possa ser conciliado com o uso de ácaros predadores (Samish & Rehacek 1999). Patógenos e outros inimigos naturais (predadores e parasitóides) competem pela mesma fonte de alimento, e sempre existe o risco de um inimigo natural atingir organismos não-alvo, quando introduzidos em um novo ambiente. Especificamente para a interação de *N. floridana*, *T. evansi* e *P. longipes* não há esse risco (Wekesa *et al.* 2007). Estes autores relatam que a presença de *N. floridana* não afeta a atividade predatória de *P. longipes* contra *T. evansi*. Assim, nesse caso, estes agentes podem ser utilizados simultaneamente no controle biológico. A especificidade é uma vantagem em programas de controle biológico pelo fato da utilização do patógeno ser compatível com outras práticas no manejo integrado de pragas (Hountondji *et al.* 2002). No entanto, na prática, ao mesmo tempo em que a especificidade pode ser um bom indicador para o controle biológico clássico, quando se trata de liberações inundativas essa especificidade poderia ser um problema, pois para cada espécie de praga teria que se usar um patógeno diferente.

Neozygites cresce vegetativamente como corpos hifais dentro dos ácaros, os quais se tornam múmias depois de serem mortos pelo fungo. Sob condições favoráveis, como elevada umidade relativa do ar (Delalibera *et al.* 2006, Oduor *et al.* 1996), os corpos hifais transformam-se em conidióforos não ramificados, e cada um produz e lança vigorosamente um conídio primário para fora do cadáver. O conídio primário frequentemente desenvolve um tubo capilar com um capiloconídio na porção distal. Como capiloconídio, única fase infectiva do fungo, esta apresenta uma estratégia de emboscada, '*sit and wait*', que é o contato físico do hospedeiro com a estrutura infectiva, a qual adere ao ácaro. Este processo promove a transmissão horizontal, durante a fase assexuada do ciclo de vida (Carner 1976).

De acordo com os resultados desse trabalho, o melhor isolado para controlar *T. evansi* é o LQ2, pois esse isolado proporcionou maior percentagem de infecção e mumificação (53,4 % e 27,3%, respectivamente), além de ter apresentado maior especificidade a *T. evansi* em relação aos outros tetraniquídeos estudados. O ácaro mumificado é caracterizado pelo inchaço e coloração marrom claro ou escuro, dependendo do isolado. A alta mumificação indica que o fungo se desenvolve bem no hospedeiro. Teoricamente, a maior contaminação resulta em maior mortalidade, o que levaria à obtenção dos maiores níveis de mumificação e maior esporulação. Diferenças na mumificação e esporulação podem ter várias implicações sobre a eficiência do fungo no controle de ácaros. Isso acontece porque a qualidade dos cadáveres mumificados determina a esporulação, que por sua vez influencia na transmissão horizontal. Portanto, ácaros infectados e que mumificam rapidamente por um isolado de *Neozygites* cria um potencial para mais ciclos de multiplicação do fungo, favorecendo o desenvolvimento de epizootias, enquanto a baixa mumificação provoca diminuição das taxas de transmissão em longo prazo, resultando em lento desenvolvimento e baixa capacidade de controle. Os resultados da esporulação e

mumificação também são importantes para se saber em quais ácaros as múmias podem ser produzidas, tanto para o uso em laboratório quanto para liberação em campo.

Os resultados deste trabalho indicam que *N. floridana* apresenta alta especificidade ao ácaro hospedeiro e este aspecto deve ser considerado quando forem selecionados isolados para produção *in vivo* ou *in vitro* a fim de serem utilizados em programas de controle microbiano.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo a primeira autora, junto ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Ao Prof. Dr. Jorge Braz Torres e a doutoranda Andréia Serra Galvão pelo auxílio nas análises estatísticas. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de Produtividade em Pesquisa aos demais autores.

Literatura Citada

- Brandenburg, R.L. & G.G. Kennedy. 1982.** Relationships of *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in field corn. J. Econ. Entomol. 75: 691-694.
- Britto, E.P.J., K.K.M, Fiaboe, M.G.C. Gondim Jr., G.J. Moraes, I., Delalibera Jr & M. Knapp. 2004.** Epizootia de *Neozygites* aff. *floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) em Recife. In: XIV Congresso de Iniciação Científica. Recife, PE. CD-ROM.
- Boykin, L.S., W.V.Campbell & M.K. Beute. 1984.** Effect of pesticides on *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) and Arthropod predators attacking the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) in North Carolina Peanut fields. J. Econ. Entomol. 77: 969-975.
- Carner, G.R. 1976.** A description of the cycle of *Entomophthora* sp. in the two-spotted spider mite. J. Invertebr. Pathol. 28: 245-254.

- Cranham, J.E. & W. Helle. 1985.** Pesticide resistance in Tetranychidae p.405-421. In Helle, W. & Sabelis, M.W. (eds.), Spider mites: Their biology, natural enemies and control. Volume 2 Elsevier, Amsterdam, 458p.
- Delalibera Jr., I & A.E. Hajek. 2004.** Pathogenicity and specificity of *Neozygites tanajoae* and *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) isolates pathogenic to the cassava green mite. Biol. Control 30: 608-616.
- Delalibera Jr., I., A.E. Hajek & R.A. Humber. 2004.** *Neozygites tanajoae* sp. nov., a pathogen of the cassava green mite. Mycologia 96: 1002-1009.
- Delalibera Jr., I., C.G.B. Demétrio, B.F.J. Manly & A.E. Hajek. 2006.** Effect of relative humidity and origin of isolates of *Neozygites tanajoae* (Zygomycetes: Entomophthorales) on production of conidia from cassava green mite, *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae), cadavers. Biol. Control 39: 489-496.
- Dick, G.L., L.L. Buschman & W.A. Ramoska. 1992.** Description of a species of *Neozygites* infecting *Oligonychus pratensis* in the western great plains of the United States. Mycologia 84: 729-738.
- Fiaboe, K.K.M. 2007.** Studies of potential predators of the tomato red spider mite *Tetranychus evansi* (Baker and Pritchard) for possible introductions as biological agents in Africa. PhD Thesis, Kenyatta University, Nairobi, Kenya, 170 p.
- Fisher, F.E. 1951.** An *Entomophthora* attacking citrus red mite. Fla. Entomol. 24: 83-88.
- Flechtmann, C.H.W. 1985.** Ácaros de importância agrícola. São Paulo, Nobel, 189p.
- Flechtmann, C.H.W. 1996.** Rediscovery of *Tetranychus abacae* Beker & Pritchard, additional description and notes on South American spider mites (Acari, Prostigmata, Tetranychidae). Rev. Bras. Zool. 13: 569-587.
- Hountondji, F.C.C., J.S. Yaninek, G.J. Moraes & G.I. Oduor. 2002.** Host specificity of the cassava green mite pathogen *Neozygites floridana*. BioControl 47: 61-66.
- Humber, R.A., G.J. Moraes & J.M. Santos. 1981.** Natural infection of *Tetranychus evansi* (Acarina: Tetranychidae) by a *Triplosporium* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) in Northeastern Brazil. Entomophaga 26: 421-425.
- Mietkiewski, R., S. Balazy & L.P.S. Van Der Geest. 1993.** Observations on a Mycosis of Spider Mites (Acari: Tetranychidae) caused by *Neozygites floridana* in Poland. J. Invertebr. Pathol. 61: 317-319.
- Moraes, G.J. & I. Delalibera Jr. 1992.** Specificity of a strain of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) to *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 14: 89-94.

- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechtmann. 1981.** Ácaros fitófagos do nordeste do Brasil. Pesqu. Agropecu. Bras. 16: 177-186.
- Nordengen, I. & I. Klingen. 2006.** Comparison of methods for estimating the prevalence of *Neozygites floridana* in *Tetranychus urticae* populations infesting strawberries. J. Invertebr. Pathol. 92: 1-6.
- Oduor, G.I., G.J. Moraes, L.P.S. Van Der Geest & J.S. Yaninek. 1996.** Production and germination of primary conidia of *Neozygites floridana* (Zygomycetes:Entomophthorales) under constant temperatures, humidities, and photoperiods. J. Invertebr. Pathol. 68: 213-222.
- Rameseshiah, G. 1971.** Occurrence of an *Entomophthora* on tetranychid mites in India. J. Invertebr. Pathol. 18: 421-424.
- Saba, F. 1971.** Population dynamics of some tetranychids in subtropical Florida. In: Proceedings 3rd International Congress of Acarology (31 Aug- 06 Sep. 1971), Prague, Junk, The Hague, 237-240.
- Samish, M. & J. Rehacek. 1999.** Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. Annu. Rev. Entomol. 44: 159-82.
- SAS Institute. 1999-2001.** SAS/STAT® User's guide. Cary NC.
- Saunyama, I.G.M. & M. Knapp. 2003.** The effects of pruning and trellising of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) on red spider mite (*Tetranychus evansi* Baker & Pritchard) incidence and crop yield in Zimbabwe. Afr. Crop Sci. J. 11: 269-277.
- Selhime, A.G. & M.H. Muma. 1966.** Biology of *Entomophthora floridana* attacking *Eutetranychus banksi*. Fla. Entomol. 49: 161-170.
- Van Der Geest., L.P.S., S.L. Elliot, J.A.J. Breeuwer & E.A.M. Beerling. 2000.** Diseases of mites. Exp. Appl. Acarol. 24: 497-560.
- Wekesa, V.W., G.J. Moraes, M. Knapp & I. Delalibera Jr. 2007.** Interactions of two natural enemies of *Tetranychus evansi*, the fungal pathogen *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) and the predatory mite, *Phytoseiulus longipes* (Acari: Phytoseiidae). Biol. Control 41: 408-414.

Tabela 1. Localidade, coordenadas geográficas, data de coleta e hospedeiro dos isolados de *N.floridana*.

Isolado	Localidade	Latitude	Longitude	Data	Hospedeiro
LQ1	Piracicaba/SP	22°42' S	47°37' W	Jun/04	<i>T. urticae</i>
LQ2	Piracicaba/SP	22°42' S	47°37' W	Set/04	<i>T. evansi</i>
LQ4	Recife/PE	7°41' S	34°50' W	Set/06	<i>T. evansi</i>
N1	Recife/PE	7°41' S	34°50' W	Jun/07	<i>T. evansi</i>
N2	Camocim de São Felix/PE	8°31' S	35°45' W	Jun/07	<i>T. ludeni</i>

Tabela 2. Percentagem (%) de contaminação, infecção e mumificação de isolados de *N. floridana* a seis espécies de Tetranychidae.

Isolado	Parâmetros	Acaros ¹					
		<i>T. abacae</i>	<i>T. evansi</i>	<i>T. ludeni</i>	<i>T. urticae</i>	<i>M. tanajoa</i>	<i>S. sacharum</i>
LQ1	Contaminação	18,8 ± 6,1 Bbc	64,0 ± 9,6 Aa	37,0 ± 13,3Aabc	61,3 ± 4,1 Aa	56,2 ± 8,2 Aab	11,4 ± 4,5 Bc
	Infecção	2,7 ± 1,8 b	1,4 ± 0,6 Cb	0,0 ± 0,0 Ab	59,5 ± 7,1 Aa	7,2 ± 2,8 Ab	*
	Mumificação	*	0,0 ± 0,0 Bb	*	47,9 ± 4,9 Aa	*	*
LQ2	Contaminação	33,5 ± 6,9 ABa	59,0 ± 7,4 Aa	50,4 ± 9,0 Aa	40,8 ± 10,2 Aa	42,2 ± 7,1 Aa	39,5 ± 2,2 ABa
	Infecção	*	53,4 ± 5,7 Aa	8,0 ± 3,8 Ab	12,3 ± 3,7 Cb	4,4 ± 3,3 Ab	*
	Mumificação	*	27,3 ± 6,5 Aa	*	2,9 ± 0,9 Bb	*	*
LQ4	Contaminação	42,5 ± 2,8 Aa	51,5 ± 5,8 Aa	58,7 ± 6,6 Aa	57,7 ± 9,4 Aa	57,3 ± 10,0 Aa	46,0 ± 14,1 Aa
	Infecção	*	23,2 ± 6,5 Ba	1,0 ± 1,0 Ab	36,5 ± 7,9 Ba	4,0 ± 2,1 Ab	*
	Mumificação	*	3,83 ± 2,1 Ba	*	2,3 ± 2,3 Ba	*	*

¹Médias (± EP) de contaminação, infecção e mumificação seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna para cada parâmetro e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey HSD (P > 0,05).

Tabela 3. Porcentagem (%) de infecção e mumificação de isolados de *N. floridana* a espécies de Tetranychidae.

Isolados	Parâmetro	Ácaros ¹					
		<i>T. abacae</i>	<i>T. armipenis</i>	<i>T. evansi</i>	<i>T. ludeni</i>	<i>T. urticae</i>	<i>M. tanajoa</i>
N1	Infecção	0,0±0,0	14,0 ± 4,00 Bb	86,5±5,00 Aa	0,0±0,0	2,5±1,28 c	0,0±0,0
	Mumificação	0,0±0,0	0,0±0,0	17,9±1,20 Aa	0,0±0,0	1,0±0,47 b	0,0±0,0
N2	Infecção	0,0±0,0	47,5 ± 7,75 Ab	12,5±2,50 Bc	84,0 ± 6,80 a	0,0±0,0	0,0±0,0
	Mumificação	0,0±0,0	11,1±1,41 b	2,6±0,52 Bc	59,0 ± 4,80 a	0,0±0,0	0,0±0,0

¹Médias (± EP) de infecção e mumificação (%), seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna para cada parâmetro (Teste *t*) e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey HSD ($P > 0,05$).

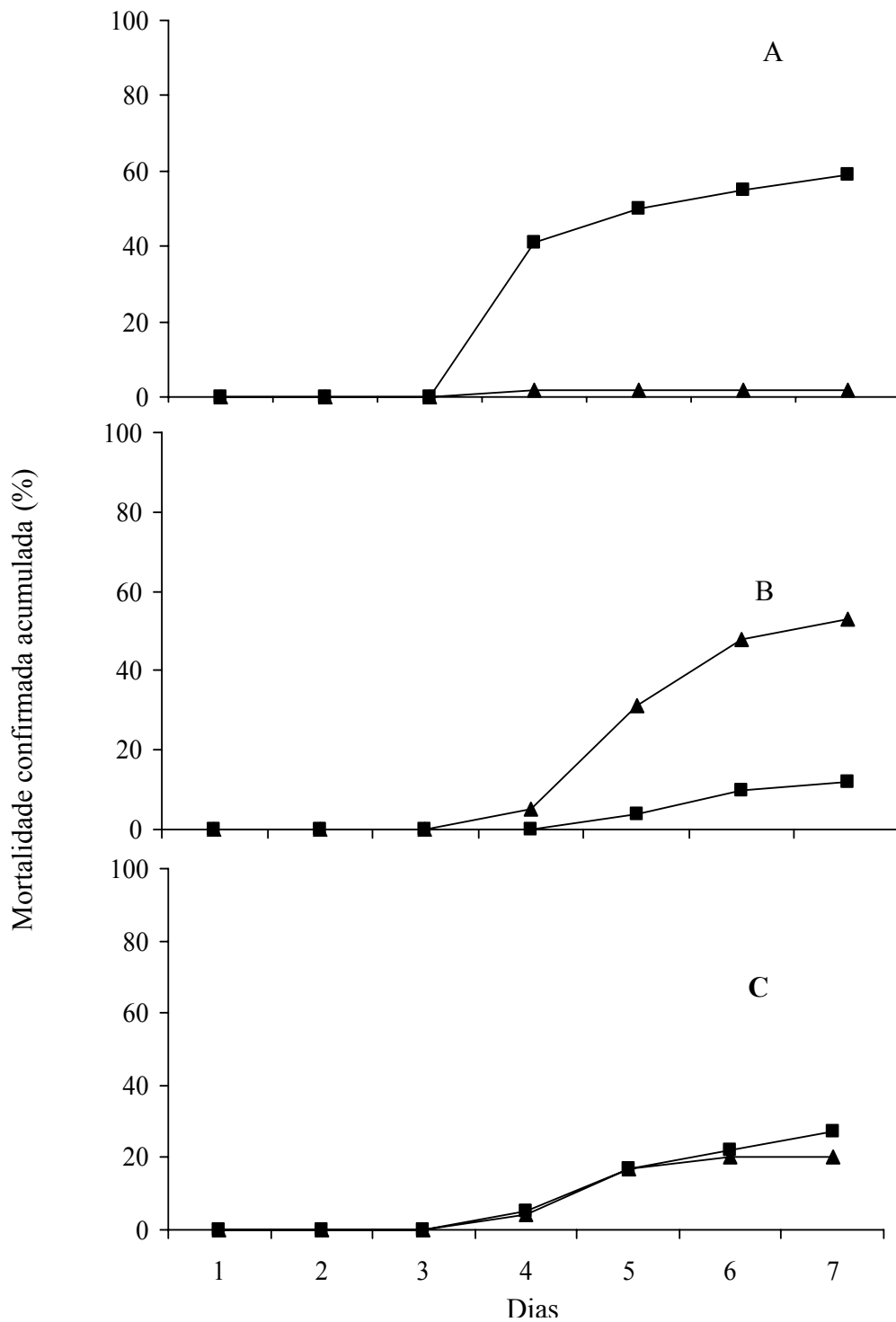


Figura 1. Mortalidade confirmada acumulada de fêmeas adultas de *T. urticae* (■) e *T. evansi* (▲) submetidas a infecção por capiloconídios dos isolados LQ1 (A), LQ2 (B) e LQ4 (C).

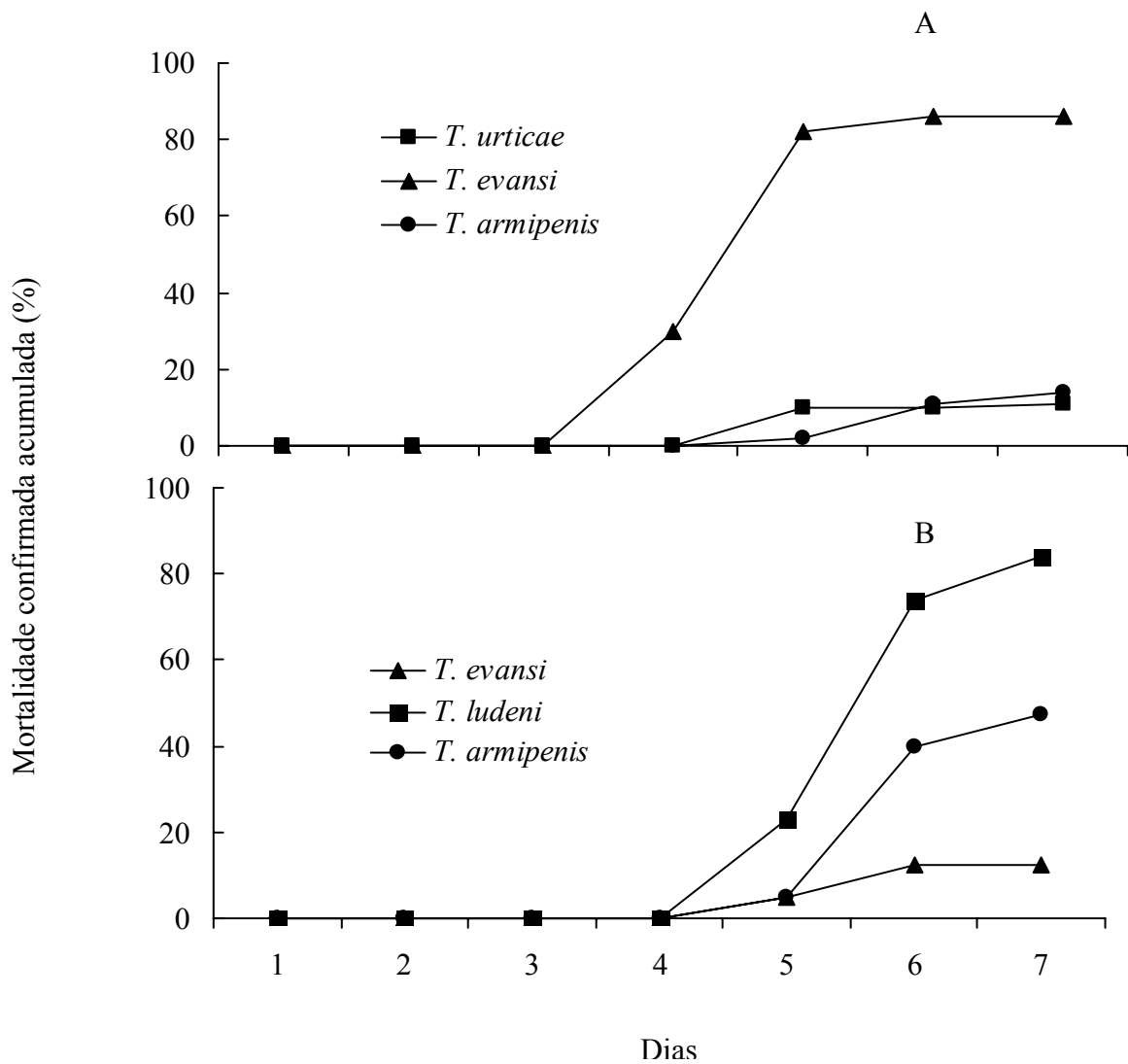


Figura 2. Mortalidade confirmada acumulada de fêmeas adultas de *T. urticae*, *T. evansi* e *T. armipenis* (A) submetidos a capiloconídios do isolado N1 e *T. evansi*, *T. ludeni* e *T. armipenis* (B) submetidas a infecção por capiloconídios do isolado N2.

CAPÍTULO 3

DINÂMICA POPULACIONAL DE *Tetranychus evansi* BAKER & PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM *Solanum americanum* Mill.¹

ANA E. L. RIBEIRO², MANOEL G.C. GONDIM JR.²E ITALO DELALIBERA JR.³

²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo Av. Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

¹Ribeiro, A.E.L., Gondim Jr., M.G. & Delalibera Jr., I. Dinâmica populacional de *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) e seus inimigos naturais em *Solanum americanum* Mill. Biocontrol Science Technology.

RESUMO – Dentre os inimigos naturais de *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) foram registrados no Brasil, o patógeno *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) e o ácaro predador *Phytoseiulus longipes* Evans (Acari: Phytoseiidae). A eficiência destes no controle de *T. evansi* foi avaliada em condições de laboratório, contudo, pouco se sabe sobre seu desempenho em solanáceas nativas que servem como hospedeiros destes agentes no campo. Isto tem implicações práticas em inoculações destes inimigos naturais para estabelecimento permanente em projetos de controle biológico clássico. Neste trabalho, estudou-se a flutuação populacional de *T. evansi* e seus inimigos naturais em *Solanum americanum* Mill. em condições de casa-de-vegetação, semi-campo e campo no município de Recife, Pernambuco, Brasil, com o objetivo de avaliar o potencial de *N. floridana* e *P. longipes* no controle de *T. evansi*. A maior prevalência de *N. floridana* esteve associada ao período de maior precipitação entre os meses de maio e setembro. Nestes períodos, *N. floridana* foi o inimigo natural mais comum na população de *T. evansi*. Por outro lado, durante o período de menor precipitação, que foi de outubro a fevereiro, *P. longipes* foi o principal inimigo natural. A relação entre o número médio de *T. evansi* sadio e infectado pelo fungo com a precipitação mensal se ajustou melhor pelo modelo quadrático. Com base nos resultados pode-se inferir que a densidade populacional de *T. evansi* em *S. americanum* é influenciada pela ação de *N. floridana* e *P. longipes*, sendo a precipitação e a temperatura fatores importantes nessa interação.

PALAVRA-CHAVE: Controle biológico, ácaro, fungo entomopatígeno, predador, Solanaceae

POPULATION DYNAMICS *Tetranychus evansi* BAKER & PRITCHARD (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND ITS NATURAL ENEMIES IN *Solanum americanum* MILL.

ABSTRACT – Two natural enemies of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) were recorded in Brazil, the pathogen *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Zygomycetes: Entomophthorales) and the predatory mite *Phytoseiulus longipes* Evans (Acari: Phytoseiidae). The efficiency of those in the control of *T. evansi* was evaluated under laboratory conditions, however, little is known about its performance in native Solanaceae serving as a reservoir of these agents in the field. This has practical implications in inoculations of these natural enemies for permanent establishment in classical biological control projects. In this work, we studied the population fluctuation of *T. evansi* and their natural enemies in *Solanum americanum* Mill. in a greenhouse, plots and field in the city of Recife, Pernambuco, Brazil, aiming to evaluate the potential of *N. floridana* and *P. longipes* in controlling *T. evansi*. The highest prevalence of *N. floridana* was related to the period of increased rainfall between May and September. During these periods *N. floridana* was the most common natural enemy in populations of *T. evansi*. Moreover, during periods of low rainfall, which was from October to February, *P. longipes* was the main natural enemy. The relationship between the average number of *T. evansi* healthy and infected by the fungus with monthly rainfall, adjusted better by quadratic model. Based on the results it can be inferred that the population density of *T. evansi* in *S. americanum* is influenced by the action of *N. floridana*, *P. longipes*, and precipitation and temperature.

KEY WORDS: Biological control, mite, entomopathogenic fungi, predatory, Solanaceae

Introdução

O ácaro-vermelho-do-tomateiro, *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, é provavelmente originário da América (Gutierrez & Etienne 1986), e foi relatado como uma importante praga no Nordeste do Brasil em tomateiro (Silva 1954, Ramalho & Flechtmann 1979, Moraes & Flechtmann 1981). Este ácaro teve seu primeiro registro na África continental em 1979 no Zimbábue (Blair 1983). Posteriormente, foi registrado em diversos outros países africanos (Bonato 1999, ICIPE 1999), sendo considerado uma das pragas mais importantes do tomateiro em algumas regiões daquele continente (Saunyama & Knapp 2003). *T. evansi* é relatado em 47 espécies de plantas de 17 famílias; 21 espécies são solanáceas (Bolland *et al.* 1998).

Recentemente, *T. evansi* foi relatado na Europa, onde tem produzido altas infestações em outras espécies de plantas das famílias Amaranthaceae: *Amaranthus blitoides* S. Wats.; Asteraceae: *Conyza bonariensis* (L.) Cronq.; *Sonchus oleraceus* L.; Brassicaceae: *Diplotaxis eruroides* (L.) DC; Convolvulaceae: *Convolvulus arvensis* L.; Poaceae: *Hordeum murinum* L.; além das solanáceas: *Solanum esculentum* Dunal.; *Solanum nigrum* L.; *Solanum sodomaeum* L.; *Solanum tuberosum* L. (Ferragut & Escudero 1999).

Tetranychus evansi é dificilmente encontrado no Brasil em plantios comerciais de tomate, devido à aplicação de inseticidas utilizados no controle de importantes pragas como a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B, a traça *Tuta absoluta* (Meirick) e a broca-pequena-do-fruto *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée). Por outro lado, *T. evansi* é frequentemente encontrado em solanáceas nativas, como *Solanum americanum* Mill. (Fiaboe *et al.* 2007, Furtado *et al.* 2007, Silva *et al.* 2008), que atua como um hospedeiro natural deste ácaro. Esta planta é nativa da América (Lorenzi 2000) e produzida comercialmente na África para a alimentação humana (Hassan & Umar 2008). No Brasil, levantamentos de ácaros em solanáceas têm registrado a ocorrência de inimigos naturais de *T. evansi* quase que exclusivamente em solanáceas nativas

(Furtado *et al.* 2006, Fiaboe *et al.* 2007, Silva *et al.* 2008). Como *T. evansi* é exótico na África e Europa, a ausência de inimigos naturais eficazes naqueles continentes tem promovido a busca de potenciais inimigos naturais na América (Furtado *et al.* 2006, Fiaboe *et al.* 2007, Silva *et al.* 2008).

Outro importante grupo de inimigos naturais de ácaros são os fungos da ordem Entomophthorales (Van Der Geest *et al.* 2000), sendo *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) a espécie com maior potencial para utilização no controle de populações de Tetranychidae (Carner 1976, Delalibera *et al.* 1992, Delalibera & Hajek 2004). Populações de *T. evansi* foram encontradas infectadas por *N. floridana* em *S. americanum* no estado de Pernambuco, Brasil, nos períodos de temperaturas mais baixas e alta umidade (Britto *et al.* 2004). Um aspecto importante de *N. floridana* é que ele não afeta a atividade predatória dos ácaros da família Phytoseiidae. Segundo Wekesa *et al.* (2007) em estudos feitos em laboratório, verificou-se que a auto-limpeza (*grooming*) realizado por *Phytoseiulus longipes* Evans provoca remoção de parte das estruturas infectivas (capiloconídios) do fungo e mesmo aqueles conídios que ficam aderidos não promovem a infecção, devido à especificidade de *N. floridana*. Assim, esses agentes podem ser utilizados simultaneamente no controle biológico de *T. evansi*.

Diversos trabalhos têm citado espécies de ácaros predadores, sobretudo da família Phytoseiidae, associados com plantas da família Solanaceae (Fiaboe *et al.* 2007, Furtado *et al.* 2007). Entretanto, a maioria das espécies não se mostrou eficiente no controle de *T. evansi* devido à baixa viabilidade das formas imaturas e oviposição (Moraes & McMurtry 1985, 1986, Rosa *et al.* 2005, Vasconcelos *et al.* 2008). Recentemente, Furtado *et al.* (2006) constataram que uma população de *P. longipes* obtida no Estado do Rio Grande do Sul e associada a *T. evansi* em solanáceas nativas, demonstrou potencial de desenvolvimento e reprodução, sob condições de laboratório sobre este tetraniquídeo.

Apesar das prospecções feitas na América em busca de inimigos naturais de *T. evansi* e dos testes laboratoriais para verificar a eficiência dos predadores no controle desta praga, nada foi feito até o momento em condições de campo para avaliar o potencial dos inimigos naturais. Neste trabalho foi avaliado se a densidade populacional de *T. evansi* é influenciada pela ação de inimigos naturais como *N. floridana* e *P. longipes*. Para tanto, estudou-se a flutuação populacional de *T. evansi* e seus inimigos naturais em *S. americanum* em condições de casa-de-vegetação, semi-campo e campo com o objetivo de avaliar o impacto destes inimigos naturais na regulação das populações de *T. evansi*.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido na área experimental da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), campus de Recife, latitude 7°41' S e longitude 34°50' W. As sementes de *S. americanum* utilizadas para cultivo foram obtidas de plantas de ocorrência natural no mesmo local. A sementeira de *S. americanum* foi feita em bandejas de isopor para produção de mudas de 128 células, preenchidas com substrato (Plant Max Hortaliças HA[®]) para plantio. A população de *T. evansi* utilizada foi, também, obtida nas mesmas coordenadas em *S. americanum* e criada em laboratório sobre este hospedeiro. Em todos os experimentos os inimigos naturais ocorreram naturalmente.

Dinâmica populacional

Telado. Mudas de *S. americanum* com 3-4 pares de folhas foram transplantadas para vasos com capacidade para 10 L, preenchidos com uma mistura de solo e húmus de minhoca (Febra Húmus, Recife, PE) na proporção 3:1 e colocadas em casa-de-vegetação protegida por tela anti-afídeos. As plantas foram irrigadas três vezes ao dia. A partir de 15 dias do transplante, quando as plantas apresentavam aproximadamente 20 cm de altura, foi realizada a infestação artificial com 30

fêmeas adultas de *T. evansi* no terço mediano de cada planta, sendo utilizadas 30 plantas como repetições. Após 15 dias da infestação, retirou-se semanalmente uma folha da região mediana de cada planta e procedeu-se a contagem dos adultos de *T. evansi* e formas imaturas, exceto ovos. Foram contados os ácaros vivos e os mumificados por *N. floridana*. Foram considerados ácaros mortos mumificados aqueles visualmente inchados e de coloração escura, e vivos aqueles que se locomoviam. Foram montados em lâmina para microscopia os adultos vivos para determinação da porcentagem de ácaros contaminados e infectados pelo fungo (vivos com *N. floridana*). Considerou-se contaminados aqueles ácaros com capiloconídios aderidos ao corpo; considerou-se infectados aqueles com a presença de corpos hifais no interior. As avaliações foram feitas em duas épocas; de abril a julho e repetido de julho a outubro de 2008. A temperatura e umidade foram registradas diariamente.

Semi-campo. Plantas de *S. americanum* foram cultivadas a campo em dezesseis parcelas, sendo cada parcela constituída por um anel de cimento com 45 cm de diâmetro, 25 cm de altura e capacidade de 50 L, consideradas como parcela experimental. Os anéis foram dispostos em duas linhas de quatro, constituindo um bloco, separado de outro bloco por três metros de distância com a mesma disposição dos anéis. A distância entre cada linha de um mesmo bloco e de cada anel de uma mesma linha era de 30 cm. Todos os anéis foram preenchidos com uma mistura de solo e húmus de minhoca, na proporção de 3:1. Três mudas de *S. americanum*, com 3-4 pares de folhas foram transplantadas para cada parcela do bloco I em 23/01/06. A infestação dessas plantas ocorreu naturalmente por *T. evansi*. Coletaram-se quinzenalmente de 08/03/06 a 08/08/07 cinco folhas de cada anel e em cada folha foi contado o número de adultos de *T. evansi* e formas imaturas, exceto ovos. Para os adultos, foi contado o número de ácaros vivos e mumificados por *N. floridana*. Um mês após o plantio do bloco I foi plantado o bloco II de maneira semelhante. O

bloco II foi protegido com a aplicação de Vertimec 18CE na dosagem de 0,17 ml/l, com aplicações quinzenais durante 45 dias após o transplante.

Ao final do ciclo natural de *S. americanum* no bloco I, que durou em média três meses, seccionou-se o coleto das plantas e estas foram amarradas com um barbante, sendo que em seguida todas as plantas de uma parcela foram transferidas para o centro de outra parcela do bloco II, permitindo assim que os ácaros e seus inimigos naturais infestassem as novas plantas. Um mês após o corte das plantas do bloco I o substrato foi renovado e novas mudas transplantadas, sendo feita uma rotação da população dos ácaros e seus inimigos naturais de um bloco para o outro, alternadamente ao final de cada ciclo. O estudo teve a duração de dezoito meses, iniciado em março de 2006 e finalizado em agosto de 2007.

Os dados obtidos neste item para o número médio de *T. evansi* e *N. floridana* em relação a precipitação (mm), temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) foram submetidos a análise de regressão tendo como variáveis dependentes, o número médio de *T. evansi* e *N. floridana*, e como variável independente a precipitação, temperatura e umidade relativa do ar. O modelo de maior ajuste foi aceito mediante coeficientes significativos a 5% de probabilidade e maior coeficiente de determinação. Todas as análises foram realizadas empregando-se o programa estatístico SAS (SAS, Institute 1999-2000).

As plantas dos anéis com as populações de *T. evansi* e seus predadores foram alternadas de um bloco para o outro em 03/04, 15/06, 24/08 e 15/11 de 2006 e em 23/02, 13/04 e 14/06 de 2007.

Campo. Plântulas de *S. americanum* com 3 a 4 pares de folhas foram transplantadas para o campo em uma área de 150 m², em 25/03/2007. O plantio foi realizado em espaçamento de 0,7 m entre linhas e 0,6 m entre plantas. Quando as plantas atingiram em média 0,5 m de altura em 10/05/07 foi feita infestação artificial de *T. evansi*, colocando 30 fêmeas adultas na parte mediana de cada

planta. Avaliações foram feitas semanalmente, entre 25/05/07 e 13/08/07. Em cada avaliação foram coletadas, ao acaso, 40 folhas de *S. americanum*. A avaliação foi feita como no teste anterior.

Resultados e Discussão

Telado. No primeiro ciclo de cultivo, três semanas após a infestação artificial das plantas (30/05/08), a densidade média de *T. evansi* foi de 5,3 ácaros por folha e nesta ocasião já se detectou ácaros infectados/contaminados por *N. floridana* (Fig. 1 A). A densidade de *T. evansi* aumentou gradativamente até atingir um máximo de 108,5 e 28,2 ácaros vivos sem e com *N. floridana*, respectivamente, em 20/06/08, enquanto que a densidade máxima de *T. evansi* mumificado (199,4) foi verificada na semana seguinte (27/06/08). A partir de 20/06/08 a população de *T. evansi* começou a declinar, atingindo valores de 0,6 e 0,0 ácaros vivos sem e com *N. floridana* em 18/07/08. A fase epizootica da doença ocorreu, aproximadamente, durante o mês de junho e início de julho, quando se verificou uma redução na temperatura e a umidade relativa do ar média variou de 65 a 70% (Fig. 1B).

No segundo ciclo de cultivo, a densidade de *T. evansi* foi de 0,1 ácaros por folha três semanas após a infestação (07/08/08). Após duas semanas a população de *T. evansi* aumentou para 14,3 ácaros, quando se detectou também infecção/contaminação por *N. floridana*. A densidade de *T. evansi* vivo sem *N. floridana* aumentou gradativamente até atingir um máximo de 221,0 ácaros em 05/09/08. A partir desta data a população de *T. evansi* vivo com *N. floridana* começou a aumentar, atingindo um máximo em 19/09/08 de 20,3 ácaros. Nesta mesma data a densidade de múmias atingiu um máximo de 153,8 ácaros, quando a população de *T. evansi* vivo sem *N. floridana* já havia decrescido para 37,6 ácaros. Em seguida, a população de *T. evansi* continuou regredindo até atingir valores de 0,9 e 0,5 ácaros vivos sem e com *N. floridana*, respectivamente (Fig. 1A). Durante a epizootia da doença houve uma grande oscilação da

temperatura, variando de 19 a 40,6 °C, enquanto a umidade relativa do ar média se manteve acima de 97% durante a fase epizootica entre 22/08/08 e 26/09/08 (Fig. 1B).

Semi-campo. A população de *T. evansi* apresentou dois picos populacionais entre março e setembro de 2006. Os picos populacionais de *T. evansi* alcançaram valores médios de 245,4 e 215,1 ácaros por folha em 07/04/06 e 09/08/06. Estes picos populacionais foram acompanhados por aumentos da população de *P. longipes* e *N. floridana*, apresentando na avaliação seguinte valores de 5,3 ácaros em 19/04/06 e 107,6 mummies em 23/08/06, respectivamente. A partir de outubro de 2006, *T. evansi* apresentou picos populacionais com valores bem inferiores aos verificados anteriormente, sendo observados 46,4 e 59,5 ácaros por folha em 01/11/06 e 07/02/07, respectivamente. Estes aumentos na população de *T. evansi* também foram acompanhados por elevações na densidade populacional de *P. longipes*, sendo verificados na avaliação seguinte 27,9 e 9,1 ácaros por folha. Entre 18/04/07 e 29/05/07 verificou-se outro aumento populacional de *T. evansi*, atingindo um máximo de 48,7 ácaros por folha em 02/05/07, o qual foi acompanhado também por um aumento populacional de *P. longipes* (Fig. 2A).

Durante os dezoito meses de avaliação, o período de abril a agosto de 2006 e 2007 apresentou precipitação mensal total acima de 200 mm, configurando o período de maior incidência de chuva para o município de Recife, PE. Já o período de setembro de 2006 a janeiro de 2007 apresentou precipitação mensal total inferior a 100 mm, configurando o período mais seco do ano. A umidade relativa do ar média variou de 65 a 87% ao longo do experimento (Fig. 2C). A temperatura média variou de 20 a 29 °C (Fig. 2B).

O predador *Stethorus tridens* Gordon (Coleoptera: Coccinellidae) foi encontrado alimentando-se de *T. evansi*, nos períodos de 08/03/06 a 19/04/06, 14/06/06 a 09/08/06, 18/10/06 a 13/12/06 e 10/01/07 a 07/02/07. Estes períodos coincidiram com os picos populacionais de *T. evansi*. Exceto

em 23/03/06 e 07/04/06, quando *S. tridens* atingiu médias de 2,3 e 1,0 indivíduos por folha, respectivamente, a densidade populacional desta joaninha predadora foi em geral sempre baixa.

Precipitações mensais acima de 100 mm reduziram a densidade populacional de *T. evansi* sadio e aumentaram a densidade de *T. evansi* mumificado por *N. floridana* (Fig. 3A e 3B).

Campo. A densidade de *T. evansi* vivo sem *N. floridana* foi de 0,1 ácaros por folha, duas semanas após a infestação artificial em 25/05/07, mantendo-se em baixos níveis até 22/06/07, quando já se detectou a presença de *N. floridana*. A partir desta data, a população de *T. evansi* aumentou gradativamente até atingir um máximo de 33,3 ácaros em 06/07/07. A partir de 22/06/07 a população de *T. evansi* mumificado também aumentou gradativamente, atingindo um máximo em 13/07/08 com 27,0 ácaros mumificados. A partir desta data, a população declinou, atingindo valores de 0,1 ácaros vivos e 0,0 ácaros mumificados em 27/07/07 e 04/08/07, respectivamente (Fig. 4A). Entre os meses 05/07 e 08/07 a temperatura média variou de 19 a 21,6 °C, e a precipitação total mensal variou de 60 a 160 mm (Fig. 4B).

Os inimigos naturais de *T. evansi* verificados neste estudo foram *N. floridana*, *P. longipes* e *S. tridens*. O aumento populacional desse tetraniquídeo foi sempre seguido por aumentos na densidade dos inimigos naturais, que aparentemente foram os principais responsáveis pela redução da população de *T. evansi*. Como esperado, verificou-se que a densidade populacional dos inimigos naturais, além de estar diretamente ligada a densidade de *T. evansi*, também é bastante influenciada por fatores climáticos. A época de ocorrência de *N. floridana* parece estar restrita ao período de maior incidência de chuva, quando a precipitação mensal ficou entre 100 e 300 mm por mês, a temperatura média entre 20 e 26 (°C) e umidade relativa do ar acima de 70%. Por outro lado, os estudos realizados em casa-de-vegetação onde não há ocorrência de chuva comprovam que é possível a ocorrência de epizootias de *N. floridana* em períodos mais secos e quentes, sugerindo que a chuva não exerça um efeito direto neste processo. As maiores

densidades de *P. longipes* ocorreram nos meses de novembro e fevereiro, que coincidiu com a época de altas temperaturas.

Os fatores que causam a desaceleração no crescimento ou impede o crescimento contínuo da população da praga são a competição por alimento e abrigo, e o efeito dos inimigos naturais, pois esses fatores atuam como dependentes da densidade, regulando a população da praga. Entretanto, os inimigos naturais precisam de um período para aumentar a sua população e causar mortalidade significativa, promovendo a redução da população da praga (Nicholson 1933, Elkinton 2003). Nos testes em casa-de-vegetação, semi-campo e campo, verificou-se que após o pico populacional de *T. evansi* ocorreu também, na avaliação seguinte, um pico populacional de *P. longipes* ou *N. floridana*. Este último inclusive, frequentemente atingiu níveis comparáveis ao da maior densidade populacional da praga. Este fato indica claramente o papel do fungo na supressão da densidade populacional de *T. evansi* no período chuvoso do ano. O mesmo pode ser observado, em condições de semi-campo, para *P. longipes*, durante os períodos mais secos dos anos de 2006 e 2007.

Apesar dos inimigos naturais avaliados neste estudo terem ocorrido em épocas distintas do ano, existe a possibilidade de *N. floridana* complementar a ação de *P. longipes* podendo ambos ocorrer simultaneamente sobre a população de *T. evansi* já que *N. floridana* não é patogênico e não altera a capacidade predatória de *P. longipes*. A única alteração comportamental que o fungo causa no predador é o aumento da auto-limpeza (*grooming*) para remoção dos capiloconídios do fungo que ficam aderidos ao corpo do ácaro (Wekesa *et al.* 2007). As espécies de *Neozygites* patogênicas a ácaros apresentam uma alta especificidade (Moraes & Delalibera 1992) que é uma grande vantagem em programas de controle biológico, pois este fungo pode ser usado em conjunto com predadores (Hountondji *et al.* 2002).

O predador *P. longipes* já foi encontrado na Argentina, Chile, África do Sul e Zimbábue (Moraes *et al.* 2004), países que apresentam temperaturas baixas no inverno. Esse predador foi encontrado associado com *T. evansi* em Uruguaiana, Rio Grande do Sul, estado brasileiro que também apresenta invernos frios (Furtado *et al.* 2006). Segundo Leite & Klein (1990) a temperatura na região de Uruguaiana é elevada no verão e baixa no inverno, quando as médias, inferiores a 15°C, perduram por mais de três meses, com ocorrência freqüentes de geadas. A constatação da ocorrência natural de *P. longipes* naquelas condições poderia sugerir sua preferência por baixas temperaturas, podendo isso explicar sua distribuição aparentemente restrita no Brasil. Entretanto, Ferrero *et al.* (2007) demonstraram em estudos de laboratório que *P. longipes* pode se desenvolver satisfatoriamente em uma faixa de temperatura de 15 a 30 °C. Furtado *et al.* (2007) também constataram que *P. longipes* desenvolve e reproduz bem a 25 °C. Silva (2007) verificou, em condições de casa-de-vegetação, que *P. longipes* foi capaz de manter a população de *T. evansi* em baixa densidade populacional, quando comparado ao tratamento sem a presença do predador. Isto sugere que *P. longipes* pode ser um predador efetivo de *T. evansi* em regiões mais quentes e úmidas. *P. longipes* foi introduzido no campus da UFRPE em 2005 e se manteve em plantas próximas a área experimental durante a realização do trabalho, mostrando que a ocorrência deste predador pode não ser limitada por altas temperaturas. Contudo, este ácaro não se estabeleceu no local, pois a partir do ano de 2008 ele não foi mais localizado nesta área. É possível que *P. longipes* não tenha se estabelecido devido a outros fatores como a competição inter-específica com *Phytoseiulus macropilis* (Banks), que ocorre naturalmente na região ou este último talvez esteja mais adaptado às condições climáticas do Nordeste, entre outros fatores. Além disso, as liberações feitas em Recife não foram inundativas e não foram planejadas para o estabelecimento permanente.

Outro inimigo natural de *T. evansi* encontrado neste estudo foi o coccinelídeo *S. tridens*, que está frequentemente associado a altas populações de *T. evansi* em Recife (Britto *et al.* 2004, Fiaboe *et al.* 2007). Contudo, esse predador aparentemente não foi determinante para a redução da população de *T. evansi* neste estudo, não só pela baixa densidade populacional verificada, como pelo fato de só ocorrer durante os picos populacionais da praga. Estudos têm mostrado que *S. tridens* requer altas populações de *T. evansi* para se reproduzir (Britto *et al.* No Prelo), sendo, portanto dependente ou associado apenas a altas populações da praga como observado no estudo.

Observa-se no experimento de semi-campo que a incidência de *N. floridana* foi verificada em 2006 e não foi verificada em 2007. O não surgimento de *N. floridana* em 2007 pode ser decorrente da baixa população de *T. evansi* naquele ano, que por sua vez foi reduzida anteriormente pelo ácaro predador *P. longipes* durante o ano de 2006. Smitley *et al.* (1986) ressalta que para *T. urticae*, as epizootias de *N. floridana* variam de ano a ano, dependendo das condições ambientais. Brandenburg & Kennedy (1982) relataram que temperaturas abaixo de 29 °C e umidade relativa maior que 90% por cerca de 40 h antes da epizootia de *N. floridana* é fator importante para infecção de *T. urticae*. Essas condições são encontradas, principalmente durante períodos chuvosos e durante a noite, lembrando também que são essas as condições necessárias para a produção de conídios primários de outros fungos entomopatogênicos (Hajek *et al.* 1990, Oduor *et al.* 1995). Espécies de *Neozygites* se desenvolvem, geralmente, entre 16 a 27 °C, umidade do ar próxima a 100% e, geralmente, ocorre no início das estações chuvosas (Alves 1998). A infecção de *M. tanajoa* por *Neozygites* sp. em diversos campos de mandioca foi observada por Delalibera Jr. *et al.* (2000). Este autor constatou que 26 dias antes do surgimento dos ácaros infectados ocorreu elevação da umidade relativa de 70 para 79%, da temperatura de 23,1 para 23,4°C e precipitação de 111 mm. Entretanto, neste estudo, não foi encontrada significância nas correlações entre *P. longipes*, *N. floridana* e *T. evansi* com o parâmetro umidade

relativa do ar. Klubertanz *et al.* (1991) e Gaede (1992) mostraram que a umidade nas camadas próximas a superfície foliar apresenta uma relação muito mais íntima com pequenos artrópodes, principalmente os ácaros, que a umidade do ambiente, e como as condições do hospedeiro influenciam diretamente no desenvolvimento de fungos específicos, esse deve ser um fator que também deve ser considerado.

Ainda, se conhece pouco sobre a forma como *N. floridana* se mantém no ambiente na ausência de hospedeiros. É possível que ele sobreviva entre as estações chuvosas na forma de esporos de resistência, em cadáveres no solo ou de forma enzoótica em populações de Tetranychidae. O conhecimento mais detalhado do entendimento da epizootiologia de *N. floridana* poderá facilitar seu uso para o controle de populações de Tetranychidae, esclarecendo como os focos iniciais da doença se originam no campo.

Através dos resultados deste trabalho pode-se afirmar que *S. americanum* é um reservatório natural para manutenção de populações de *T. evansi* e também permite o desenvolvimento de populações dos seus inimigos naturais *N. floridana* e *P. longipes* em condições de campo. A presença de *S. americanum* nos locais de liberação destes inimigos naturais na África deve aumentar as chances de estabelecimento permanente em programas de controle biológico clássico de *T. evansi*. *N. floridana* e *P. longipes* foram os principais inimigos naturais de *T. evansi* responsáveis pela sua redução populacional nas condições estudadas.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo a primeira autora, junto ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A Andréia Serra Galvão pelo

auxilio nas análises estatísticas. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de Produtividade em Pesquisa aos demais autores.

Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos entomopatogênicos, p.289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, Fealq, 1163p.
- Blair, B.W. 1983.** *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae): A new pest of tobacco in Zimbabwe. Coresta Phytopathol.Agron.Study Group, Bergerac, France. 1-6.
- Bolland, H.R., J. Gutierrez & C.H.W. Flechtmann. 1998.** World catalog of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Leiden, Brill, 392p.
- Bonato, O. 1999.** The effect of temperature on life history parameters of *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 23: 11-19.
- Brandenburg, R.L. & G.G. Kennedy. 1982.** Relationship of *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in field corn. J. Econ. Entomol. 75: 691-694.
- Britto, E.P.J., K.K.M. Fiaboe, M.G.C. Gondim Jr., G.J. Moraes & M. Knapp. 2004.** Epizootia de *Neozygites* aff. *floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) em Recife. In: XIV Congresso de Iniciação Científica. Recife, PE. CD-ROM.
- Britto, E.P.J., M.G.C. Gondim Jr., J.B. Torres, K.K.M. Fiaboe, G.J. Moraes, I. Delalibera Jr. & M. Knapp.** Predation and reproductive output of the ladybird beetle *Stethorus tridens* preying on tomato red spider mite *Tetranychus evansi*. BioControl No Prelo.
- Carner, G.R. 1976.** A description of the cycle of *Entomophthora* sp. in the two-spotted spider mite. J. Invertebr. Pathol. 28: 245-254.
- Delalibera Jr., I. & A.E. Hajek. 2004.** Pathogenicity and specificity of *Neozygites tanajoae* and *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) isolates pathogenic to the cassava green mite. Biol. Control. 30: 608-616.
- Delalibera Jr., I., G.J. Moraes, S.L. Lapointe, C.A.D. Silva & M.A. Tamai. 2000.** Temporal variability and progression of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) in populations of *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). An. Soc. Entomol. Brasil 29: 523-536.

- Delalibera Jr., I., D.R.S. Gomez, G.J. Moraes, J.A. Alencar & N.F. Araújo. 1992.** Infection of *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae) by the fungus *Neozygites* sp. (Entomophthorales) in Northern Brazil. Fla. Entomol. 75: 145-147.
- Elkinton, J.S. 2003.** Population ecology. p.933-944. In V.H. Vicent & R.T.Cardé (eds) Encyclopedia of insects. New York, Elsevier Science. 1266p.
- Ferragut, F. & L.A. Escudero. 1999.** *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari, Tetranychidae), una nueva araña roja em los cultivos hortícolas españoles. Bol. Sanid. Veg. Plagas 25: 157-164.
- Ferrero, M., S. Kreiter, M. Tixer & M. Knapp. 2007.** Life tables of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* feeding on *Tetranychus evansi* at four temperatures (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 41: 45-53.
- Fiaboe, K.K.M, M.G.C. Gondim Jr., G.J. Moraes, C.K.P.O. Ogol & M. Knapp. 2007.** Surveys for natural enemies of the tomato red spider mite *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) in northeastern and southeastern Brazil. Zootaxa 1395: 33-58.
- Furtado, I.P., G.J. Moraes, S. Kreiter & M. Knapp. 2006.** Search for effective natural enemies of *Tetranychus evansi* in south and southeast Brazil. Exp. Appl. Acarol. 40: 157-174.
- Furtado, I.P., S. Toledo, G.J. Moraes, S. Kreiter & M. Knapp. 2007.** Search for effective natural enemies of *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) in northwest Argentina. Exp. Appl. Acarol. 43: 121-127.
- Gaede, K. 1992.** On the water balance of *Phytoseiulus persimilis* A.-H. and its ecological significance. Exp. Appl. Acarol. 15: 181-198.
- Gutierrez, J. & J. Etienne. 1986.** Les Tetranychidae de l'île de la Réunion et quelques-uns de leurs prédateurs. Agron. Trop. 41: 84-91.
- Hajek, A.E., R.I. Carruthers & R.S. Soper. 1990.** Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophaga maimaga* (Zygomycetes: Entomophthorales), a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). Environ. Entomol. 19: 85-90.
- Hassan L.G. & K.J. Umar. 2008.** Nutritional Value of Nightshade (*Solanum americanum* Mill.) Leaves. Electr. J. Food and Plants Chem. 3: 14-17.
- Hountondji, F.C.C., J.S. Yaninek, G.J. Moraes & G.I. Oduor. 2002.** Host specificity of the cassava green mite pathogen *Neozygites floridana*. BioControl 47: 61-66.
- ICIPE. 1999.** Development of environmentally friendly management methods for red spider mites in small-holder tomato production systems in eastern and southern Africa. Report of the 2nd Planning Workshop. Harare, 31 August-4 September 1999.

- Klubertanz, T.H., L.P. Pedigo & R.E. Carlson. 1991.** Impact of fungal epizootics on the biology and management of the two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) in soybean. *Environ. Entomol.* 20: 731-735.
- Leite, P.F. & R.M. Klein. 1990.** Vegetação, p. 113-150. In Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), *Geografia do Brasil. Volume 2: Região Sul.* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Lorenzi, H. 2000.** Plantas daninhas do Brasil. Nova Odessa, Plantarum. 640p.
- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechtmann. 1981.** Ácaros fitófagos do nordeste do Brasil. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 16: 177-186.
- Moraes, G.J. & J.A. McMurtry. 1985.** Comparison of *T. evansi* and *T. urticae* (Acari: Tetranychidae) as prey for eight species of phytoseiid mites. *Entomophaga* 30: 393-397.
- Moraes, G.J. & J.A. McMurtry. 1986.** Suitability of the spider mite *Tetranychus evansi* as prey for *Phytoseiulus persimilis*. *Entomol. Exp. Appl.* 40: 109-115.
- Moraes, G.J. & I. Delalibera Jr. 1992.** Specificity of a strain of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) to *Monoychellus tanajoa* (Acari:Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 14: 89-94.
- Moraes, G.J., J.A. McMurtry, H.A. Denmark & C.B. Campos. 2004.** A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. *Zootaxa* 434: 1-494.
- Nicholson, A.J. 1933.** The balance of animal populations. *J. Anim. Ecol.* 1: 131-178.
- Oduor, G.I., J.S. Yaninek, L.P.S. Van Der Geest & G.J. Moraes. 1995.** Survival of *Neozygites* cf. *floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) in mummified cassava green mites and the viability of its primary conidia. *Exp. Appl. Acarol.* 19: 479-488.
- Ramalho, F.S. & C.H.W. Flechtmann. 1979.** Níveis de infestação de *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, 1960 em diferentes fases de desenvolvimento do tomateiro. *Rev. Agric. Piracicaba* 54: 51-56.
- Rosa, A.A., M.G.C. Gondim Jr., K.K.M. Fiaboe, G.J. Moraes & M. Knapp. 2005.** Predaceous arthropods associated with *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on native solanaceous plants of coastal Pernambuco State, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 34: 689-692.
- Saunyama, I.G.M. & M. Knapp. 2003.** The effects of pruning and trellising of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) on red spider mite (*Tetranychus evansi* Baker & Pritchard) incidence and crop yield in Zimbabwe. *Afr. Crop Sci. J.* 11: 269-277.
- SAS Institute. 1999-2001** SAS/STAT® User's guide. Cary NC.

- Silva, P. 1954.** Um novo ácaro nocivo ao tomateiro na Bahia (*Tetranychus marianae* McGregor, 1950-Acarina). Bol. Inst. Biol. Bahia 1: 18-37.
- Silva, R.F., G.J. Moraes & M. Knapp. 2008.** Distribution of *Tetranychus evansi* and its predator *Phytoseiulus longipes* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) in southern Brazil. Exp. Appl. Acarol. 45:137-145.
- Silva, R.F. 2007.** *Phytoseiulus longipes*: um eficiente agente de controle de *Tetranychus evansi* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) na cultura do tomateiro. Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 59 p.
- Smitley, D.R., G.G. Kennedy & W.M. Brooks. 1986.** Role of the entomogenous fungus, *Neozygites floridana* in population declines of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, on the field corn. Entomol. Exp. Appl. 41: 255-264.
- Van Der Geest, L.P.S., S.L. Elliot., J.A.J. Breeuwer & E.A.M. Beerling. 2000.** Diseases of mites. Exp. Appl. Acarol. 24: 497-560.
- Vasconcelos, G.J.N., G.J. Moraes, I. Delalibera Jr. & M. Knapp. 2008.** Life history of the predatory mite *Phytoseiulus fragariae* on *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) at five temperatures. Exp. Appl. Acarol. 44: 27-43.
- Wekesa, V.W., G.J. Moraes, M. Knapp & I. Delalibera Jr. 2007.** Interactions of two natural enemies of *Tetranychus evansi*, the fungal pathogen *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) and the predatory mite, *Phytoseiulus longipes* (Acari: Phytoseiidae). Biol. Control 41: 408-414.

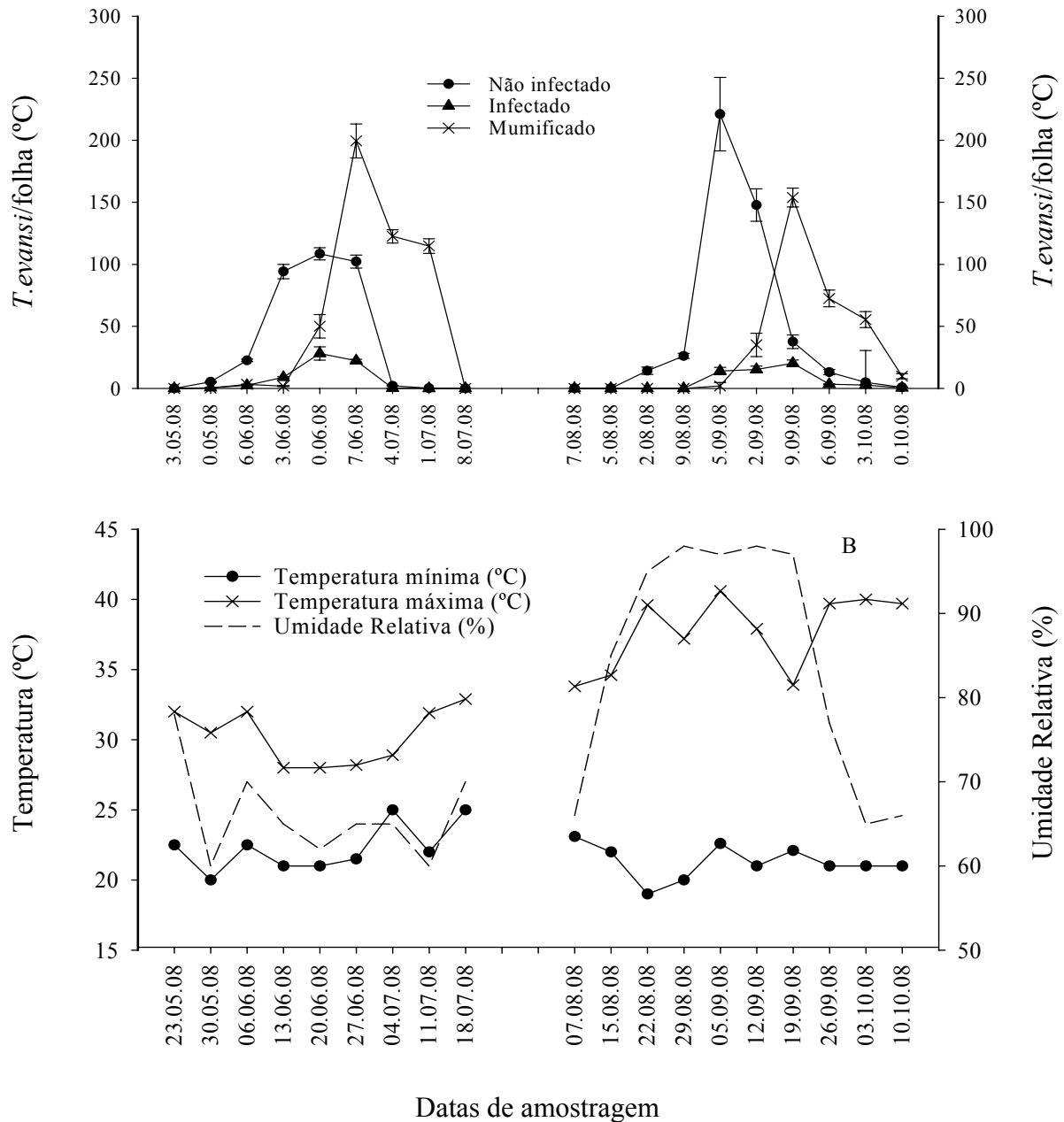


Figura 1. Flutuação populacional de *T. evansi* vivo sem *N. floridana* (•), vivo com *N. floridana* (▲) e mumificado por *N. floridana* (x) (A) e temperatura mínima (•), temperatura máxima (▲) e umidade relativa média (--) (B), no período de maio a outubro de 2008 em casa-de-vegetação.

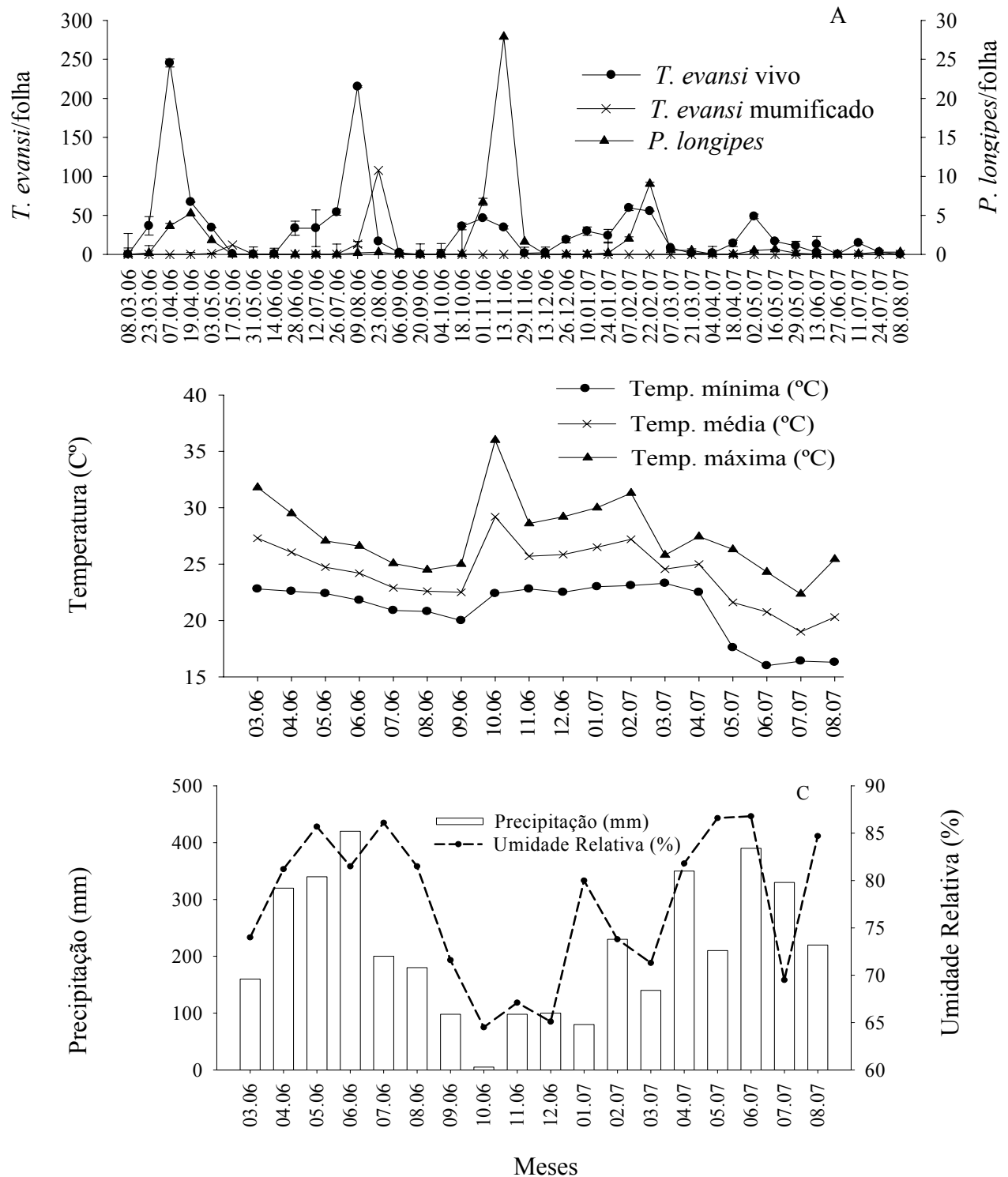


Figura 2. Dinâmica populacional de *T. evansi*, *P. longipes* e *N. floridana* em semi-campo no período de 2006 e 2007 (A) e temperatura média (x), umidade relativa média (-.-) e precipitação (□) (B) no período de avaliação de 2006 a 2007 em semi-campo.

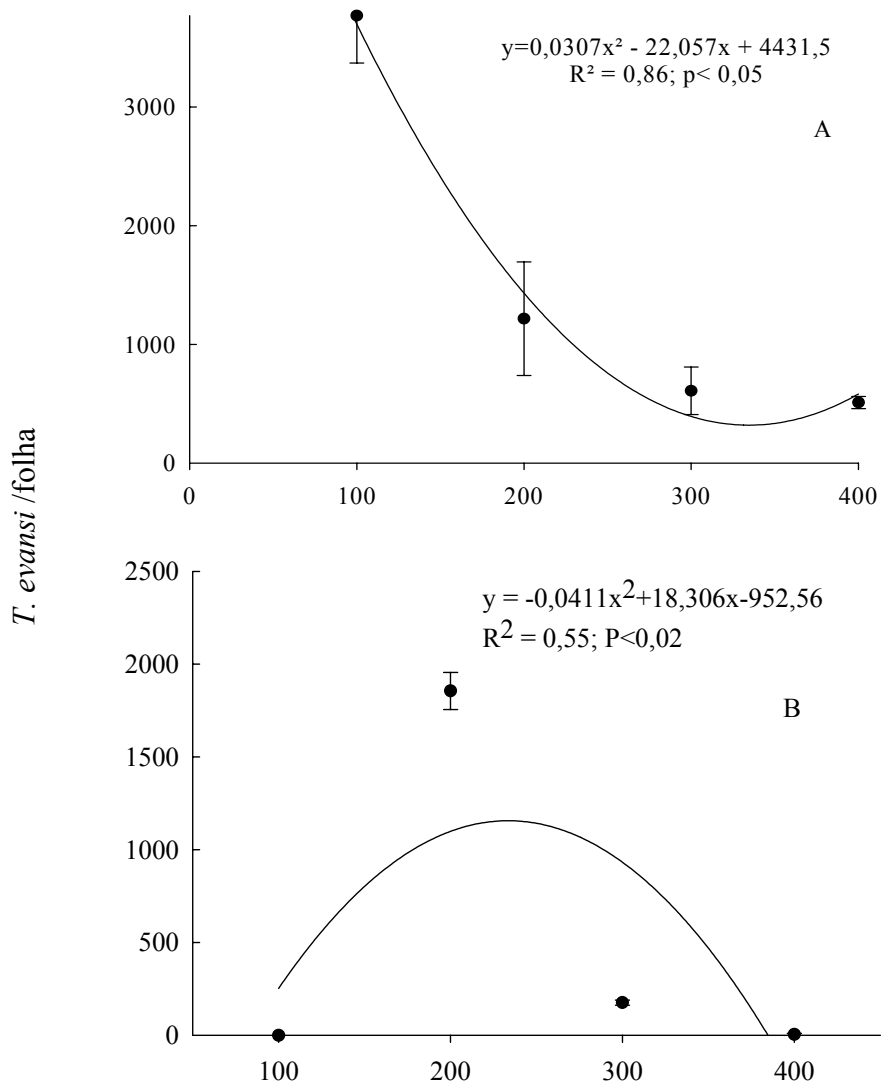


Figura 3. Relação entre precipitação total mensal (mm) na população de *T. evansi* (A) e prevalência de *N. floridana* (B) em condições de semi-campo em plantas de *S. americanum*.

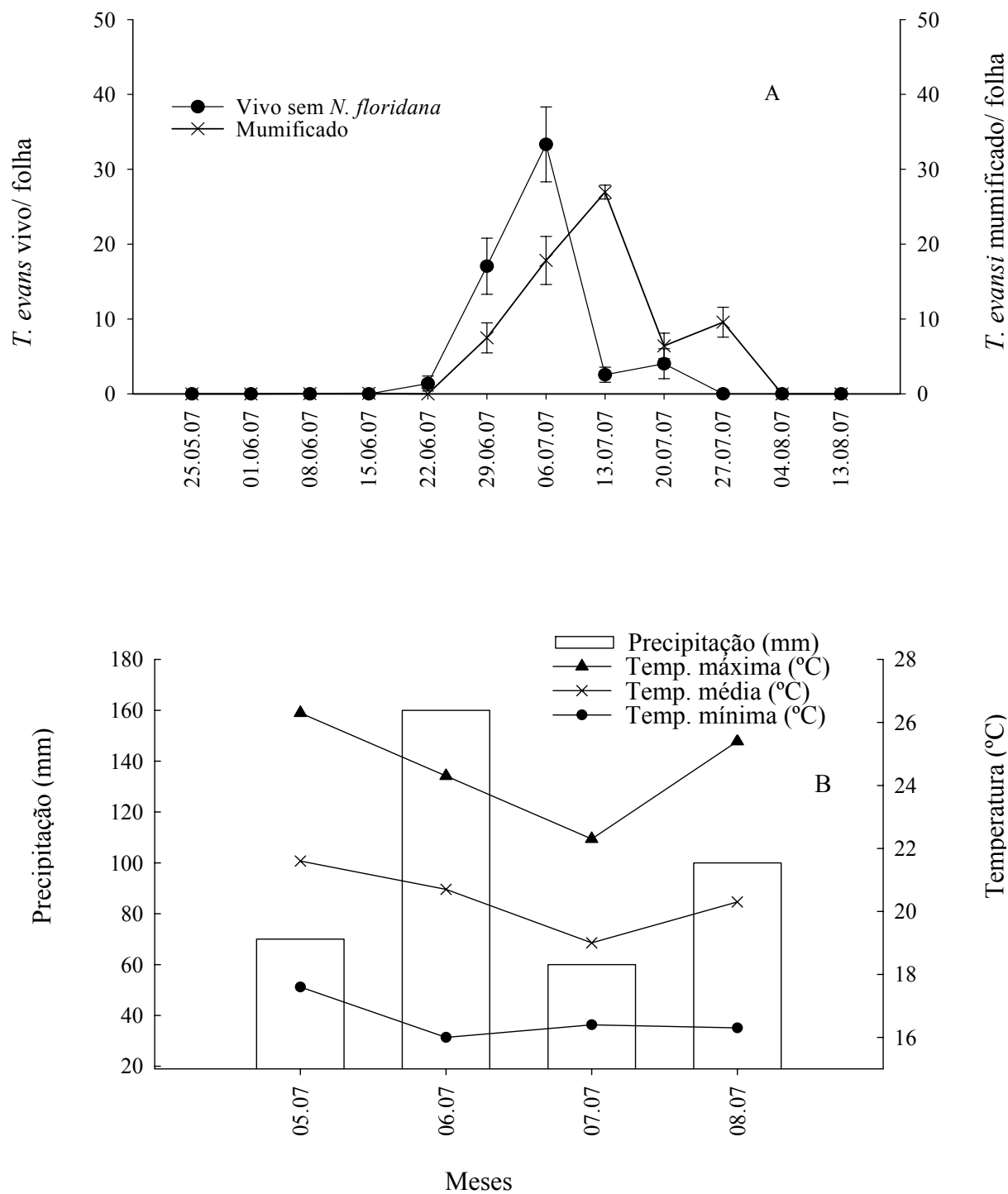


Figura 4. Flutuação populacional de *T. evansi* vivo e mumificado por *N. floridana* (A), temperatura mínima (●), temperatura média (x), temperatura máxima (▲) (B) e precipitação (□) e umidade relativa (--) (C) no período de maio a agosto de 2007 em campo.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DE FATORES POTENCIALMENTE INDUTORES NA FORMAÇÃO DE ESPOROS DE RESISTÊNCIA DE *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) EM *Tetranychus evansi* BAKER & PRITCHARD E *Tetranychus urticae* KOCH¹

ANA E. L. RIBEIRO², MANOEL G.C. GONDIM JR.² E ITALO DELALIBERA JR.³

²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Av. Pádua Dias, 11, Caixa Postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

¹ Ribeiro, A.E.L., Gondim Jr., M.G. & Delalibera Jr., I. Avaliação de fatores potencialmente indutores na formação de esporos de resistência de *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard e *Tetranychus urticae* Koch. “A ser submetido”.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi investigar os fatores potencialmente indutores da formação de esporos de resistência de *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Fungi: Entomophthorales) em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard e *Tetranychus urticae* Koch em condições de laboratório em *Solanum americanum* Mill. Nos bioensaios foram testados fatores bióticos: compatibilidade sexual de isolados, qualidade da planta hospedeira, idade dos ácaros; e fatores abióticos: temperatura e diferentes níveis de umidade. A percentagem de ácaros com esporos de resistência foi 0,03% (4 em um total de 13.516 ácaros avaliados). Dois ácaros com esporos de resistência foram encontrados a 32°C e UR de 70%, um a 35°C e UR de 60% e outro em folhas com 100% de clorose. Somente foram observados esporos de resistência do isolado LQ4. É possível que a formação de esporos de resistência seja induzida por uma combinação de fatores diferentes dos testados neste estudo ou que *N. floridana* pode estar perdendo a capacidade de formar esporos de resistência e esta estrutura não seja a forma mais freqüente do fungo se manter no ambiente, em regiões tropicais.

PALAVRAS-CHAVE: Entomophthorales, sobrevivência, Tetranychidae

EVALUATION OF FACTORS POTENTIALLY INDUCE THE FORMATION OF RESTING
SPORES TO *Neozygites floridana* (WEISER & MUMA) IN *Tetranychus evansi* BAKER &
PRITCHARD AND *Tetranychus urticae* KOCH

ABSTRACT – This study aimed to investigate the factors potentially induce the formation of resting spores to *Neozygites floridana* (Weiser & Muma) (Fungi: Entomophthorales) in *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard and *Tetranychus urticae* Koch under laboratory conditions. Biotic factors tested were: sexual compatibility of isolates, quality of the host plant, age of the mites, and abiotic factors: temperature and different levels of humidity. The percentage of mites with resting spores was 0.03% (4 mites) in a total of 13.516 mites evaluated. Two mites with resting spores were found at the temperature of 32 °C and relative humidity of 70%, one at temperature of 35 °C and relative humidity of 60% in leaves and another with 100% of chlorosis. All mites were found where the resting spores belonged to the species *T. evansi* and to isolate LQ4. These results indicate that *N. floridana* may be losing the ability to form resting spores, and this structure should not be the most frequent form of the fungus to remain in the environment in tropical regions.

KEY WORDS: fungi, phytophagous mite, biological control, *Tetranychus*

Introdução

A ordem Entomophthorales contém os fungos que apresentam, freqüentemente, hifas asseptadas e reprodução assexuada e sexuada (Webster 1980). Os propágulos são representados por conídios primários, secundários e terciários, além de estruturas de resistência denominadas zigósporos (forma sexuada) e azigósporos (forma assexuada). Os conídios primários podem ser ejetados e, posteriormente, dar origem aos conídios secundários (infectivos), que finalmente podem formar novos conídios infectivos (terciários). Em condições especiais, formam-se a partir de hifas, os esporos de resistência ou de repouso. Estes esporos de resistência possuem no seu interior grande quantidade de substâncias de reserva nutricional para suportar condições adversas (Carner 1976). Além dos esporos de resistência, os fungos quando submetidos a condições desfavoráveis, podem sobreviver a partir de estruturas como corpos hifais e conídios. A estratégia de sobrevivência do fungo no ambiente depende de diversos fatores (Nielsen *et al.* 2001).

O gênero *Neozygites* pertence à ordem Entomophthorales e contém 16 espécies conhecidas, associadas a pequenos artrópodes (Keller 1997, Delalibera & Hajek 2004). Dentre estas, as espécies *Neozygites floridana* (Weiser & Muma), *Neozygites tanajoae* Delalibera Jr., Humber & Hajek e *Neozygites abacaridis* Mietkiewski & Balazy infectam ácaros fitófagos, sendo as duas primeiras patógenos de Tetranychidae (Selhime & Muma 1966, Humber *et al.* 1981, Delalibera *et al.* 2004) e a última, de Eriophyidae (Mietkiewski & Balazy 2003). *N. floridana* ocorre em diversas espécies de Tetranychidae, sobretudo *Tetranychus urticae* Koch em diversas partes do mundo (Brandenburg & Kennedy 1982, Boykin *et al.* 1984, Nordengen & Klingen 2006). A espécie *N. tanajoae* foi descrita como distinta de *N. floridana* e específica para o ácaro-verde-da-mandioca, *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Delalibera & Hajek 2004). *Neozygites* infecta ácaros em diferentes estágios de desenvolvimento como larva, ninfa e adulto e são bastante virulentos. No início da infecção aderem ao corpo do hospedeiro, penetram no seu interior causando-lhe a

morte (Humber *et al.* 1981). O ciclo de vida de *Neozygites* foi descrito por Carner (1976) em *T. urticae*, na Carolina do Norte, EUA, verificando um ciclo de 3 dias a 25 °C e 11 dias a 15 °C.

O ácaro-vermelho-do-tomateiro, *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, foi encontrado infectado por *N. floridana* (= *Triplosporium*) em áreas de produção de tomate em Petrolina, Nordeste do Brasil (Humber *et al.* 1981). Recentemente, *N. floridana* também foi encontrado infectando *T. evansi* em plantas de *Solanum americanum* Mill. na Zona da Mata de Pernambuco, Brasil (Britto *et al.* 2004, Fiaboe *et al.* submetido). *T. evansi* já foi relatado nas Américas, ilhas do Oceano Índico, África e sul da Europa (Saunyama & Knapp 2003). No Brasil, poucos estudos foram conduzidos até o momento, com isolados de *N. floridana* para o controle de *T. evansi* ou *T. urticae*. Levantamentos preliminares realizados no Brasil sugerem que *N. floridana* é um inimigo natural importante de *T. evansi*, indicando seu potencial para introdução em outros continentes para controle biológico clássico daquela praga (Fiaboe 2007), assim como o que foi realizado para *N. tanajoae* na África (Hountondji *et al.* 2007). Além do uso de *N. floridana* para controle de *T. evansi*, este patógeno também apresenta perspectivas de uso no controle de *T. urticae* em vários países, uma vez que esta espécie apresenta grande capacidade de desenvolvimento de resistência a acaricidas sintéticos, sendo considerada uma das principais pragas das culturas hortícolas em todo o mundo (Cranham & Helle 1985).

Pouco se conhece sobre a forma como *Neozygites* se mantém no ambiente, quando da presença do hospedeiro em baixas densidades populacionais, ou mesmo na sua ausência. Sabe-se, no entanto, que em regiões tropicais *Neozygites* apresenta focos iniciais da doença, normalmente, no início da estação chuvosa (Nielsen *et al.* 2001), causando epizootias no decorrer desta estação. Contudo, durante a estação seca não se verifica infecções ao nível de campo (Delalibera *et al.* 2000). Apesar disto, *Neozygites* deve apresentar uma ou mais estratégias para se manter no ambiente e causar novas infecções nos anos seguintes. O conhecimento destas estratégias pode

favorecer estudos básicos em laboratório e campo para o desenvolvimento de técnicas que possibilitem a utilização deste patógeno no controle de ácaros, inclusive durante os períodos mais secos do ano.

Algumas das possíveis estratégias utilizadas por Entomophthorales para se manter no ambiente são: pela sobrevivência em cadáveres mumificados do hospedeiro (i), através dos conídios primários, secundários ou hifas do patógeno no solo (ii), em baixos índices de infecção na população do hospedeiro ou em outro artrópode (iii) (Brandenburg & Kennedy 1981), além dos esporos de resistência (iv) (Hajek 1997). Alguns estudos mostraram que diversos fatores bióticos e abióticos podem interferir na formação de esporos de resistência de *Neozygites* (Matanmi & Libby 1975, Elliot *et al.* 2002). Além disso, sabe-se que aqueles fatores abióticos também estão ligados ao surgimento dos focos iniciais de infecção por *Neozygites*, e que fatores bióticos tais como: o isolado do fungo, idade e o sexo do hospedeiro podem afetar a epizootiologia deste patógeno (Nielsen *et al.* 2001, Elliot *et al.* 2002).

Neste trabalho foram formuladas as seguintes hipóteses: a exposição de *N. floridana* a condições especiais ao seu desenvolvimento, bióticas (i); e abióticas (ii) promove a formação de esporos de resistência. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar os fatores potencialmente indutores da formação de esporos de resistência de *N. floridana* em *T. evansi* e *T. urticae* em condições de laboratório em *S. americanum*.

Material e Métodos

Os bioensaios foram realizados nos Laboratórios de Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”-ESALQ/USP, no período de março a novembro de 2006, e da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em 2007.

Obtenção e Preservação das Múmias: A origem dos isolados é apresentada na Tabela 1. Folhas contendo as múmias foram coletadas em campo e acondicionadas em sacos de papel para transportar ao laboratório. Essas folhas com as múmias de *T. evansi* foram colocadas em desumidificador durante uma semana, em seguida foram armazenadas em congelador entre -10 e -20 °C. As múmias de *T. urticae* foram coletadas com auxílio de um pincel e armazenadas em frascos de vidro, contendo camadas de sílica gel e algodão, sendo armazenadas em geladeira a aproximadamente 5°C.

Fatores Bióticos - Compatibilidade Sexual de Isolados: Uma múmia do isolado LQ2 e outra de LQ3 foram colocadas lado a lado no centro de um disco de folha de tomate (*Solanum esculentum* Dunal.) e de um disco de folha de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) de 1 cm de diâmetro. Cada disco de folha foi colocado sobre um disco de espuma de polietileno de 1 cm de espessura e 9 cm de diâmetro umedecido com água destilada e este conjunto foi colocado no interior de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro. A placa foi fechada e colocada no interior de câmara climatizada a 25 °C e 24 h no escuro. Após este período, transferiram-se os discos de folha para uma lâmina de microscopia para confirmação da esporulação em microscópio, retornando-as em seguida para as placas de Petri. Apenas discos de folhas contendo mais de 300 capiloconídios foram utilizados. Em seguida, 20 fêmeas adultas de *T. evansi* ou *T. urticae* foram transferidas para um disco de folha de tomate e feijão de porco, respectivamente. Utilizaram-se 10 repetições para cada espécie de ácaro. As placas foram mantidas por 24 h a 25 °C e 12 h de fotofase. Após este período, as fêmeas foram transferidas para novos discos de folha. Estas arenas foram mantidas no interior da câmara climatizada por sete dias. Ao final deste período os ácaros vivos e mortos foram colocados em lâmina para microscopia com azul de Aman e lamínula para observação ao microscópio. Foi observada a presença e ausência de esporos de resistência.

Fatores Bióticos - Qualidade da Planta Hospedeira: Uma múmia do isolado LQ3 foi colocada no centro de discos de folhas de *C. ensiformes*, com e sem clorose provocada pela alimentação de *T. urticae*. Os discos foram colocados em placas, conforme descrito no item anterior, e estes foram mantidos em câmaras climatizadas a 25 °C, no escuro por 24 h. Em seguida, 20 fêmeas adultas de *T. urticae* foram transferidas para o disco. As placas foram incubadas a 25 °C à luz por 11 h, alternando com a condição de 15 °C e escuro por 13 h. O mesmo procedimento foi feito para o isolado LQ4, para o ácaro *T. evansi*. Realizou-se também a avaliação de cadáveres de *T. evansi* presentes em folhas senescentes de *S. americanum*. Foram coletadas 60 folhas senescentes obtidas no final do ciclo de *S. americanum*, e infestadas com *T. evansi* infectado por *N. floridana* (LQ4). No laboratório, montaram-se todos os cadáveres da superfície das folhas (680 múmias). Foi observada a presença e ausência de esporos de resistência.

Fatores Bióticos - Idade dos Ácaros: Este teste seguiu a mesma metodologia do primeiro experimento, contudo os discos de folha de *C. ensiformes* não apresentavam clorose. Foi utilizado o isolado LQ3 para a espécie *T. urticae* e esses ácaros foram transferidos para os discos de folha após a conidiogênese do fungo. Os ácaros estavam no estágio larval ou adulto. Após a infestação com *T. urticae*, as placas foram incubadas por sete dias a 25 °C e 12 h de fotofase.

Fatores Abióticos - Temperatura e Diferentes Níveis de Umidade. Fêmeas adultas de *T. evansi* foram colocadas em discos de folha de *S. esculentum* de 2 cm de diâmetro e este conjunto foi colocado no interior de arenas de plástico de 2 cm de altura por 2 cm de diâmetro. Os discos de folha foram postos sobre uma camada de algodão umedecido com água destilada e as arenas foram fechadas com filme plástico, sendo este perfurado com alfinete para impedir a saturação da umidade. Foram feitas 10 repetições por tratamento, sendo estes formados pela combinação de cada temperatura e umidade. As arenas de cada tratamento foram colocadas, sobre suporte metálico, no interior de uma cuba de vidro, contendo no seu interior soluções salinas. A umidade

relativa do ar no interior das cubas foi de 50%, 70%, 80% e 90% obtidas através do uso de soluções salinas saturadas de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, NaCl, KCl e K_2SO_4 , respectivamente seguindo as recomendações de (Winston & Bates 1960), e fotofase de 12 h. As condições de umidade relativa foram aferidas através de um termohigrômetro no início do experimento. A cuba foi fechada com filme plástico para manutenção da umidade e cada cuba, representando um tratamento, foi colocada dentro de incubadoras nas temperaturas de 32°C e 35°C. A avaliação foi semelhante ao segundo experimento, contudo o período de incubação foi de 10 dias.

Resultados e Discussão

A percentagem de ácaros com esporos de resistência foi 0,03% (4 em um total de 13.516 ácaros avaliados). Dois ácaros com esporos de resistência foram encontrados na temperatura de 32°C e UR de 70%. Os outros dois ácaros foram encontrados em bioensaios distintos, sendo um em folhas com 100% de clorose e o outro a uma temperatura de 35°C e UR de 60% (Tabela 2). Todos os ácaros contendo esporos de resistência pertenciam à espécie *T. evansi* e ao isolado LQ4 (Tabela 2 e 3).

Provavelmente, estruturas infectivas ou esporos de resistência de *Neozygites* se mantêm viáveis no solo durante os períodos em que seu hospedeiro encontra-se em baixas densidades populacionais ou até mesmo ausentes. Contudo, os fatores que desencadeiam e determinam a formação de focos iniciais de infecção não são ainda conhecidos. Hountondji *et al.* (2002) tentaram comprovar que a utilização do solo situado em locais que apresentaram epizootias de *N. tanajoae* em populações de *M. tanajoa* poderia reproduzir infecções em diferentes épocas do ano neste hospedeiro. Estes autores encontraram apenas quatro ácaros contendo esporos de resistência em um total de 467.983 ácaros examinados, não concluindo sobre quais as causas que promoveram a formação destes esporos. Estes autores mencionam ainda que os esporos de

resistência foram encontrados durante o “*harmattan*”, período caracterizado em Benin, no continente africano, por temperaturas diurnas altas e temperaturas noturnas baixa com alta umidade relativa do ar.

A sobrevivência de *N. floridana* (= *N. tanajoae*) infectando *M. tanajoa* foi estudada por Elliot *et al.* (2002) durante o período de seca em Piritiba, Noroeste da Bahia, Brasil. Estes autores observaram a presença de esporos de resistência em ácaros mumificados que ficavam no solo ou nas anfractuosidades das plantas. Avaliaram 779 ácaros, dos quais 82 (24,2%) apresentavam esporos de resistência. Segundo estes autores, a idade do ácaro, qualidade nutricional da planta hospedeira (folhas com clorose causada pela alimentação do ácaro) somados a altas populações infectadas pelo fungo podem ser fatores que induzam a formação de esporos de resistência. Hajek (1997) e Nilsen & Steenberg (2004) citam ainda que a temperatura e o número de horas de luz também podem favorecer a produção de esporos de resistência. Carner (1976) mencionou que esporos de resistência em *Entomophthora* aparecem apenas durante épocas frias nas estações do outono e inverno, em altas latitudes. Em climas temperados, muitos fungos Entomophthorales formam esporos de resistência para sobreviver em condições desfavoráveis de hospedeiro e ambiente (Hajek 1997). As infecções por espécies de *Neozygites* em regiões frias ocorrem durante a primavera e verão. Em épocas frias, há produção de esporos de resistência, que permitem ao fungo sobreviver no solo ao longo do período de inverno na Noruega (Oduor *et al.* 1995, Bridge & Worland 2004, Klingen *et al.* 2008).

O surgimento de infecções está provavelmente ligado à ocorrência de chuvas que podem levar propágulos do solo para as partes mais baixas da planta, através dos respingos de água, promovendo o contato destes com os ácaros. É possível também que a queda de alguns ácaros pela ação da chuva poderia promover o contato com os propágulos no solo, promovendo com isso

sua infecção; quando alguns destes conseguissem retornar à planta por caminamento, formariam novos focos de infecção, dando início a epizootias.

Os fungos utilizam diversas estratégias de sobrevivência para a sua manutenção no ambiente. Entretanto, fatores bióticos, abióticos e intrínsecos devem determinar quais as estratégias mais adequadas para cada um destes agentes em determinado local (Elliot *et al.* 2002). No processo evolutivo, *Neozygites* deve ter selecionado estratégias mais adequadas e perdido a capacidade de se manter na forma de determinadas estruturas pouco adaptadas a determinadas condições ambientais (Elliot *et al.* 2002, Klingen *et al.* 2008). Desta forma, o pequeno número de esporos de resistência de *N. floridana* encontrados em diferentes trabalhos pode ser uma indicação de que a formação de esporos de resistência não seja a forma mais adequada deste fungo se manter no ambiente em baixas latitudes. O fato de *Neozygites* ser um fungo de difícil cultivo em meios artificiais demonstra sua afinidade com o hospedeiro, e o seu modo peculiar de sobreviver em condições adversas.

É possível que a formação de esporos de resistência seja induzida por uma combinação de fatores diferentes dos testados neste estudo ou que *N. floridana* pode estar perdendo a capacidade de formar esporos de resistência e esta estrutura não seja a forma mais freqüente do fungo se manter no ambiente, em regiões tropicais.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo à primeira autora, junto ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Ao Vitalis W. Wekesa, doutorando da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP) pela colaboração

neste trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de Produtividade em Pesquisa aos demais autores.

Literatura Citada

- Boykin, L.S., W.V. Campbell & M.K. Beute. 1984.** Effect of pesticides on *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) and Arthropod predators attacking the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) in North Carolina Peanut fields. *J. Econ. Entomol.* 77: 969-975.
- Brandenburg, R.L. & G.G. Kennedy. 1981.** Overwintering of the pathogen *Entomophthora floridana* and its host, the twospotted spider mite. *J. Econ. Entomol.* 74: 428-431.
- Brandenburg, R.L. & G.G. Kennedy. 1982.** Relationship of *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in field corn. *J. Econ. Entomol.* 75: 691-694.
- Bridge, P.D. & M.L. Worland. 2004.** First report of an entomophthoralean fungus on an arthropod host in Antarctica. *Polar Biol.* 27: 190-192.
- Britto, E.P.J., K.K.M. Fiaboe, M.G.C. Gondim Jr., G.J. Moraes, I. Delalibera Jr. & M. Knapp. 2004.** Epizootia de *Neozygites* aff. *floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) em *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) em Recife. In: XIV Congresso de Iniciação Científica. Recife, PE. CD-ROM.
- Carner, G.R. 1976.** A description of the cycle of *Entomophthora* sp. in the two-spotted spider mite. *J. Invertebr. Pathol.* 28: 245-254.
- Cranham, J.E. & W. Helle. 1985.** Pesticide resistance in Tetranychidae, p. 405-421. In Helle, W. and Sabelis, M.W. (Eds.), *Spider mites: Their biology, natural enemies and control*. Volume 1B. Elsevier, Amsterdam, 458p
- Delalibera Jr., I., G.J. Moraes, S.L. Lapointe, C.A.D. Silva & M.A. Tamai. 2000.** Temporal variability and progression of *Neozygites* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) in populations of *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 29: 523-536.
- Delalibera Jr., I. & A.E. Hajek. 2004.** Pathogenicity and specificity of *Neozygites tanajoe* and *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) isolates pathogenic to the cassava green mite. *Biol. Control* 30: 608-616.
- Delalibera Jr., I., A.E. Hajek & R.A. Humber. 2004.** *Neozygites tanajoe* sp. nov., a pathogen of the cassava green mite. *Mycologia* 96: 1002-1009.

- Elliot, S.L., J.D. Mumford & G.J. Moraes. 2002.** The role of resting spores in the survival of mite-pathogenic fungus *Neozygites floridana* from *Mononychellus tanajoa* during dry periods in Brazil. *J. Invertebr. Pathol.* 81: 148-157.
- Fiaboe, K.K.M. 2007.** Studies of potential predators of the tomato red spider mite *Tetranychus evansi* (Baker and Pritchard) for possible introductions as biological agents in Africa. PhD Thesis, Kenyatta University, Nairobi, Kenya, 170p.
- Hajek, A.E. 1997.** Ecology of terrestrial fungal entomopathogens, p.193-247. In Jones J.G. (ed.), *Advances in microbial ecology*. New York, Plenum Press.
- Hountondji, F.C.C., J.S. Yaninek, G.J. Moraes & G.I. Oduor. 2002.** Host specificity of the cassava green mite pathogen *Neozygites floridana*. *BioControl* 47: 61-66.
- Hountondji, F.C.C., R. Hanna, A.J. Cherry, M.W. Sabelis, B. Agboton & S. Korie. 2007.** Scaling up tests on virulence of the cassava green mite fungal pathogen *Neozygites tanajoe* (Entomophthorales: Neozygiteaceae) under controlled conditions: first observations at the population level. *Exp. Appl. Acarol.* 41: 153-168.
- Humber, R.A., G.J. Moraes & J.M. Santos. 1981.** Natural infection of *Tetranychus evansi* (Acarina: Tetranychidae) by a *Triplosporium* sp. (Zygomycetes: Entomophthorales) in Northeastern Brazil. *Entomophaga* 26: 421-425.
- Keller, S. 1997.** The genus *Neozygites* (Zygomycetes: Entomophthorales) with special reference to species found in tropical regions. *Sydowia* 43: 39-122.
- Klingen, I., G. Waersted & K. Westrum. 2008.** Overwinter and prevalence of *Neozygites floridana* (Zygomycetes: Neozygiteaceae) in hibernating females of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) under cold climatic conditions in strawberries. *Exp. Appl. Acarol.* 46: 235-245.
- Matanmi, B.A. & J.L. Libby. 1975.** The production and germination of resting spores of *Entomophthora virulenta* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) *J. Invertebr. Pathol.* 27: 279-285.
- Mietkiewski, R. & S. Balazy. 2003.** *Neozygites abacaridis* sp. nov. (Entomophthorales), a new pathogen of phytophagous mites (Acari, Eriophyidae). *J. Invertebr. Pathol.* 83: 223-229.
- Nielsen, C., J. Eilenberg & K. Dromph. 2001.** Entomophthorales on cereal aphids: characterization, growth, virulence, epizootiology and potential for microbial control. *Pestic. Res.* 53: 1-75.
- Nielsen, C. & T. Steenberg. 2004.** Entomophthoralean fungi infecting the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, feeding on its winter host bird cherry, *Prunus padus*. *J. Invertebr. Pathol.* 87: 70-73.

- Nordengen, I. & I. Klingen. 2006.** Comparison of methods for estimating the prevalence of *Neozygites floridana* in *Tetranychus urticae* populations infesting strawberries. J. Invertebr. Pathol. 92: 1-6.
- Oduor, G.I., J.S. Yaninek, L.P.S. Van Der Geest & G.J. Moraes. 1995.** Survival of *Neozygites* cf. *floridana* (Zygomycetes: Entomophthorales) in mummified cassava green mites and the viability of its primary conidia. Exp. Appl. Acarol. 19: 479-488.
- Saunyama, I.G.M. & M. Knapp. 2003.** The effects of pruning and trellising of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) on red spider mite (*Tetranychus evansi* Baker & Pritchard) incidence and crop yield in Zimbabwe. Afr. Crop Sci. J. 11: 269-277.
- Selhime, A.G. & M.H. Muma. 1966.** Biology of *Entomophthora floridana* attacking *Eutetranychus banksi*. Fla. Entomol. 49: 161-170.
- Webster, J. 1980.** Introduction to fungi. Cambridge, Cambridge University Press, 669p.
- Winston, P.W. & D.H. Bates. 1960.** Saturated solutions for the control of humidity in biological research. Ecology 41: 232-237.

Tabela 1. Localidade, coordenadas geográficas, data de coleta e hospedeiro dos isolados de *N. floridana*.

Isolado	Localidade	Latitude	Longitude	Data	Hospedeiro
LQ2	Piracicaba/SP	22°42' S	47°37' W	Set/04	<i>T. evansi</i>
LQ3	Piracicaba/SP	22°42' S	47°37' W	Abr/06	<i>T. urticae</i>
LQ4	Recife/PE	7°41' S	34°50' W	Set/06	<i>T. evansi</i>

Tabela 2. Investigação de fatores bióticos associados com a formação de esporos de resistência de *N. floridana*.

Fatores bióticos	Tratamento	Hospedeiro	Esporos de Resistência ¹	
Compatibilidade Sexual	LQ2 X LQ3	<i>T. evansi</i>	-	
		<i>T. urticae</i>	-	
	LQ2 x LQ4	<i>T. evansi</i>	-	
Qualidade da planta hospedeira	Clorose	LQ3	<i>T. urticae</i>	-
		LQ4	<i>T. evansi</i>	1
	Senescência	LQ4	<i>T. evansi</i>	-
Idade dos ácaros	Larva	LQ3	<i>T. urticae</i>	-
	Adulto		<i>T. urticae</i>	-

¹Representa o número total de ácaros com esporos de resistência.

Tabela 3. Investigação de fatores abióticos associados com a formação de esporos de resistência de *N. floridana* em *T. evansi*.

Isolado	Fatores abióticos		Esporos de Resistência ¹
	Temperatura (°C)	Umidade (%)	
LQ2	32	60	-
		70	-
		80	-
		90	-
	35	60	-
		70	-
		80	-
		90	-
LQ4	32	60	-
		70	2
		80	-
		90	-
	35	60	1
		70	-
		80	-
		90	-

¹Representa o número total de ácaros com esporos de resistência.