

## BIOLOGICAL CONTROL

### Seleção de Fungos Entomopatogênicos Para o Controle de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na Cultura da Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.)

RENATO C. DE OLIVEIRA<sup>1</sup>, PEDRO M.O.J. NEVES<sup>2</sup> E LUÍS F.A. ALVES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Depto. Ciências Biológicas, Faculdade Assis Guagacz, 85806-095, Cascavel, PR

<sup>2</sup>Depto. Agronomia, Centro de Ciências Agrárias - UEL, C. postal 6001, 86051-990, Londrina, PR

<sup>3</sup>Lab. Zoologia, CCBS - UNIOESTE, Rua Universitária, 2069, 85814-110, Cascavel, PR, Bolsista CNPq

*Neotropical Entomology* 33(3):347-351 (2004)

Entomopathogenic Fungi Selection to Control *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) in Paraguay Tea Crops (*Ilex paraguariensis* St. Hill.)

**ABSTRACT** - The virulence of strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* was evaluated on *Oligonychus yothersi* (McGregor) in laboratory. The bioassays for strain selection and determination of LD<sub>50</sub> and LT<sub>50</sub> were elaborated with leaf disks of Paraguay tea infested with 10 adult females of the mite. Groups of five disks were sprayed with 1 ml of the suspension standardized in 1.0x10<sup>7</sup> conidia per ml (50 mites per treatment) of each strain. After that, the disks were maintained floating in distilled water in plastic boxes (3 cm diameter and 1.5 cm height), in environmental chamber (temperature: 25 ± 1°C; RH: 71 ± 10% and 12h photophase). Five days after the inoculation the total mortality was evaluated, and the dead mites were transferred to humid chamber. Six days after death, the sporulation in the cadavers was examined under an optical microscope. *B. bassiana* presented great potential as a microbial control agent, and can be incorporated in integrated pest management of the Paraguay tea red mite, *O. yothersi*. The *B. bassiana* strains UEL02, UEL08, UEL10, UEL50, CG082, CG166, CG375, CG424 and CG481, were the most virulent, with corrected and confirmed mortality higher than 70% and estimated value of CL<sub>50</sub> varying between 1.9x10<sup>6</sup> and 6.0x10<sup>7</sup> conidia per ml and TL<sub>50</sub> varying between 3.3 and 4.3 days.

**KEY WORDS:** Red mite, bioacaricide, patogenicity, virulence

**RESUMO** - A virulência de isolados dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces fumosoroseus* foi avaliada sobre *Oligonychus yothersi* (McGregor) em laboratório. Os bioensaios de seleção e de determinação de CL<sub>50</sub> e TL<sub>50</sub> foram realizados com discos foliares de erva-mate previamente infestados com 10 fêmeas adultas do ácaro. Para cada isolado um conjunto de cinco discos foram pulverizado com 1 ml da suspensão padronizada em 1,0x10<sup>7</sup> conídios/ml (50 ácaros por tratamento). Após pulverizados os discos foram mantidos flutuando em água destilada em caixas plásticas (3 cm diâmetro e 1,5 cm altura), em câmara tipo B.O.D. (temperatura: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 10% e fotofase de 12h). A mortalidade total foi avaliada cinco dias após a inoculação. Os ácaros mortos foram transferidos para câmara úmida para confirmação de mortalidade, sendo examinados sob microscópio ocular seis dias após a morte. O fungo *B. bassiana* apresentou grande potencial como agente de controle microbiano, podendo ser incorporado em programas de manejo integrado do ácaro vermelho da erva-mate, *O. yothersi*. Os isolados de *B. bassiana* UEL02, UEL08, UEL10, UEL50, CG082, CG166, CG375, CG424 e CG481 foram os mais virulentos. Eles apresentaram mortalidades corrigida e confirmada superiores a 70% e valores estimados de CL<sub>50</sub> variando entre 1,9x10<sup>6</sup> e 6,0x10<sup>7</sup> conídios/ml e de TL<sub>50</sub> variando entre 3,3 e 4,3 dias.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácaro vermelho, bioacaricida, patogenicidade, virulência

A erva-mate *Ilex paraguariensis* St. Hill. é uma cultura agrícola de grande importância sócio-econômica em toda a Região Sul do Brasil (Anuário Brasileiro da Erva-Mate 1999,

2000). Dentre suas principais aplicações industriais destacam-se a produção de bebidas (chimarrão, tereré, chá mate), refrigerantes e na elaboração de produtos como corante

natural, conservante alimentar, medicamentos, produtos de higiene, cosméticos e produtos de despoluição ambiental. A exportação desses produtos é feita para vários países da América Latina, Estados Unidos, Europa e Oriente Médio (Rücker & Mazuchowski 1995, Ahrens 2000).

A erva-mate apresenta uma ampla gama de artrópodos fitófagos associados, resultantes de um processo de co-evolução (Iede & Machado 1989). Contudo, algumas espécies de insetos e ácaros têm comprometido substancialmente a produção, principalmente como reflexo das mudanças no processo de exploração provocadas pela implementação de sistemas de monocultivo (De Coll & Saini 1992), bem como do uso de produtos fitossanitários não registrados e/ou recomendados para a cultura (Alves et al. 2000).

Especificamente para ácaros fitófagos da erva-mate, Santana et al. (1997) encontraram, em levantamentos realizados nas principais regiões produtoras do Sul do Brasil, as espécies: *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), conhecido como ácaro branco, *Dichopelmus notus* (Keifer), também conhecido como microácaro ou ácaro-do-bronzeado da erva-mate e *Oligonychus yothersi* (McGregor) denominado popularmente de ácaro-vermelho da erva-mate. Essas mesmas espécies foram relatadas por De Coll & Saini (1992) em regiões produtoras da cultura na Argentina. Vieira Neto & Chiaradia (1999), Penteadó (1995) e Penteadó et al. (2000) registraram como principais danos à cultura da erva-mate o ataque, geralmente em reboleiras, das brotações causando bronzeamento ou prateado das folhas, necrose e encarquilhamento, resultando em queda precoce das folhas e conseqüentemente afetando a produção.

Em relação à ocorrência de fungos entomopatogênicos atacando ácaros fitófagos na cultura da erva-mate, não se tem registro até o momento. Todavia, espécies como *Hirsutella thompsonii*, *Paecilomyces* sp. e *Neozygites* sp., entre outras, são freqüentemente citadas na literatura, contribuindo para o controle destes em diferentes culturas de importância agrícola em todo o mundo (Humber et al. 1981, Bartkowski et al. 1988, Correia et al. 1992, Zoebisch et al. 1992, Van Der Geest et al. 2000). Testes de laboratório têm demonstrado o potencial dos fungos *P. fumosoroseus* (Peña et al. 1996) e *Beauveria bassiana* (Tamai et al. 1999), no controle dos ácaros fitófagos como *P. latus* e *Tetranychus urticae* (Koch), respectivamente. Especificamente para *O. yothersi*, Oliveira et al. (2002) obtiveram resultados promissores ao estudar, em laboratório, a patogenicidade de isolados do fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Visto que a utilização da erva-mate, em muitos produtos, se faz de forma *in natura* torna-se importante o desenvolvimento de estratégias de controle de pragas menos agressivas para a cultura, visando reduzir os resíduos de produtos fitossanitários na mesma, bem como para o meio ambiente. Assim, pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando conhecer a bioecologia destes artrópodos e o desenvolvimento de estratégias para seu controle.

Neste trabalho foram realizados estudos visando selecionar isolados de fungos entomopatogênicos com elevada virulência ao ácaro vermelho *O. yothersi*, presente na cultura da erva-mate.

## Material e Métodos

Para o desenvolvimento do trabalho, mudas de erva-mate, provenientes de Ivaí - PR, foram mantidas em telado, no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Destas foram coletadas folhas usadas na criação de ácaros e nos bioensaios.

Ácaros da espécie *O. yothersi* foram obtidos em plantação comercial no Município de Cascavel, PR e mantidos em uma criação estoque no Laboratório de Controle Microbiano e Patologia de Insetos, CCA/UEL, sob condições de temperatura e luminosidade ambiente. Para criação, as folhas de erva-mate foram mantidas flutuando em água destilada em placas de Petri de plástico (9 cm de diâmetro) (Oliveira et al. 2001). Esta metodologia possibilitou a manutenção da turgescência das folhas por mais de 20 dias, o que contribuiu para o êxito dos bioensaios.

Para a realização dos bioensaios, foram colocados dez casais de ácaros adultos por folha de erva-mate, mantidas nas condições descritas anteriormente. Após 48h eles foram retirados com auxílio de um pincel, deixando-se nas folhas apenas os ovos, os quais foram mantidos em condições ambiente por aproximadamente 10 dias, tempo necessário para que as fêmeas estivessem aptas a acasalar.

**Seleção de Isolados.** Foram testados 82 isolados de fungos entomopatogênicos, sendo 64 de *B. bassiana*, 10 de *M. anisopliae* e oito de *P. fumosoroseus*, provenientes da coleção do Laboratório de Controle Microbiano e Patologia de Insetos do Centro de Ciências Agrárias - UEL, os quais estavam armazenados em tubos Eppendorf a -4°C e foram multiplicados em placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA), incubadas em câmara tipo B.O.D. à temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h, por 10 dias até plena esporulação, sendo os conídios recolhidos em tubos de fundo chato, para subseqüente utilização.

Os conídios dos diferentes isolados foram suspensos, separadamente, em 10 ml de água destilada + Tween 20 (0,02%). Cada suspensão foi quantificada e padronizada na concentração de 1x10<sup>7</sup> conídios/ml.

Para a inoculação dos conídios, discos foliares com 2 cm de diâmetro, contendo dez fêmeas adultas do ácaro, foram arranjados em conjuntos de cinco, sobre espuma umedecida com água destilada dispostas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) sendo cada uma considerada uma repetição. Pulverizou-se 1ml de cada suspensão já padronizada sobre placa, utilizando-se um pulverizador Airbrush® acoplado a um compressor/aspirador Fanen – Diapump® regulado para a pressão de 10 libras/pol<sup>2</sup>. Após a pulverização, os discos foram levados à B.O.D. regulada à temperatura de 25±1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h, por 1h para evaporação do excesso de água superficial. Posteriormente, os discos foram individualizados em recipientes plásticos (3 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura).

O conjunto de placas com os discos foi acomodado em bandejas mantidas em B.O.D., à temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h. No tratamento testemunha utilizou-se a mesma metodologia descrita anteriormente, substituindo-se a suspensão de conídios por

água destilada estéril + Tween 20 (0,02%).

No quinto dia após a inoculação procedeu-se à avaliação, transferindo-se os ácaros mortos para câmara úmida para confirmação da mortalidade pelo fungo. A câmara úmida foi montada com papel filtro estéril sobre espuma, ambos umedecidos com água destilada estéril, colocados em placa de Petri. Estas foram mantidas nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo descritas anteriormente.

Efetuiu-se a avaliação de confirmação de mortalidade dos ácaros pelo fungo no sexto dia após a transferência para câmara úmida (11 dias após a inoculação), examinando-se, sob microscópio estereoscópio os cadáveres dos mesmos. Em caso de dúvida sobre que tipo de fungo estava presente, foram preparadas lâminas com os cadáveres que apresentassem evidências de esporulação, para observação ao microscópio óptico.

A mortalidade total foi corrigida em relação à mortalidade da testemunha empregando-se a fórmula de Abbott (Abbott 1925). Devido ao elevado número de isolados testados inicialmente, utilizou-se como critério para selecionar os melhores, a porcentagem de mortalidade corrigida e confirmada  $\geq 70\%$ .

**Determinação da  $CL_{50}$  e  $TL_{50}$ .** Para determinação da eficiência, estimou-se a concentração letal média ( $CL_{50}$ ) e do tempo letal médio ( $TL_{50}$ ) para os melhores isolados selecionados.

No bioensaio para estimativa da  $CL_{50}$  prepararam-se, para cada isolado selecionado, quatro concentrações:  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml e testemunha [água destilada esterilizada + Tween 20 (0,02%)]. Utilizou-se o delineamento experimental descrito na primeira fase, com igual número de repetições e metodologia de inoculação, bem como avaliação de mortalidade total e confirmada.

A partir dos dados de mortalidade confirmada estimou-se a  $CL_{50}$  empregando-se o Proc Probit do programa estatístico SAS (SAS Institute 1998).

No bioensaio para estimativa da  $TL_{50}$  prepararam-se, para cada isolado selecionado, 30 repetições, sendo a suspensão de cada isolado padronizada na concentração de  $1,0 \times 10^7$  conídios/ml. Para o tratamento testemunha utilizou-se água destilada esterilizada + Tween 20 (0,02%).

A avaliação de mortalidade foi efetuada diariamente até o 6º dia após a inoculação, descartando-se as cinco repetições avaliadas. Os ácaros mortos foram transferidos para câmara úmida para confirmação da mortalidade pelo fungo. A confirmação de mortalidade foi realizada sempre no 6º dia, contado a partir da transferência dos ácaros para câmara úmida, observando-se, sob microscópio estereoscópio, os cadáveres que apresentassem evidências de esporulação.

Optou-se por utilizar a mortalidade confirmada por esta representar o número de ácaros que realmente foram mortos pelos patógenos. A partir dos dados de mortalidade confirmada determinou-se o  $TL_{50}$  empregando-se o Proc Probit, do programa estatístico SAS (SAS Institute 1998).

## Resultados e Discussão

Dos fungos entomopatogênicos testados, os isolados de *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus* apresentaram valores de

mortalidade confirmada inferiores a 50%. (Fig. 1). Por causa da baixa virulência, essas duas espécies foram descartadas dos bioensaios, sendo os esforços concentrados na seleção de isolados de *B. bassiana*.

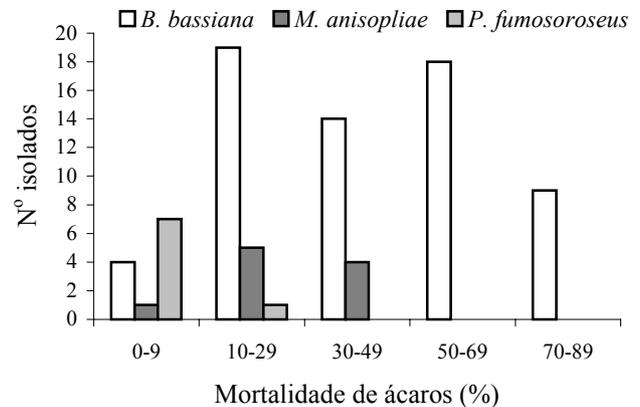


Figura 1. Frequência de distribuição dos isolados dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus* em relação à mortalidade confirmada de *O. yotherisi*.

Dos 10 isolados de *M. anisopliae* testados, 60% causaram mortalidade confirmada inferior a 29%, o restante (40%) ocasionaram mortalidade entre 30% e 50%. Para *P. fumosoroseus*, sete isolados (87,5%) causaram mortalidade confirmada inferior a 10% e um isolado (12,5%) ocasionou 20% de mortalidade confirmada (Fig 1).

Para *B. bassiana* foram testados 64 isolados. Destes 37 isolados (58%) causaram mortalidade confirmada inferior a 50%, 18 isolados (28%) apresentaram mortalidade entre 50 e 69% e apenas nove isolados (14%) ocasionaram mortalidade confirmada  $\geq 70\%$  (Fig. 1).

A partir desses resultados, os isolados com melhor desempenho (UEL10, CG166, UEL02, UEL50, CG375, CG481, UEL08, CG424 e CG082) foram utilizados para determinar a concentração letal média ( $CL_{50}$ ) e o tempo letal médio ( $TL_{50}$ ).

Os valores de  $CL_{50}$  para estes isolados variaram entre  $1,9 \times 10^6$  e  $6,0 \times 10^7$  conídios/ml (Tabela 1). O isolado UEL10 apresentou o menor valor de  $CL_{50}$  ( $1,9 \times 10^6$  conídios/ml), seguido por UEL50 e CG166 com  $4,3 \times 10^6$  e  $6,5 \times 10^6$  conídios/ml, respectivamente. Os valores de  $TL_{50}$  variaram entre 3,3 e 4,3 dias (Tabela 1), sendo o isolado UEL10 o que apresentou o menor  $TL_{50}$  (3,3 dias).

Esses resultados foram semelhantes aos relatados por Peña *et al.* (1996) que obtiveram para *B. bassiana*, a  $CL_{50}$  de  $1,85 \times 10^6$  conídios/ml e  $TL_{50}$  de 4,7 dias, empregando uma concentração de  $1,0 \times 10^6$  conídios/ml sobre *P. latus*. Tamai (1997) utilizou  $5 \times 10^8$  conídios/ml de *B. bassiana* e obteve elevada porcentagem de mortalidade do ácaro *T. urticae*, contudo não determinou o tempo letal médio para os isolados testados. Dados sobre a virulência de isolados de fungos entomopatogênicos estão bem documentados na literatura em relação a insetos fitófagos, contudo é difícil estabelecer comparações com os dados aqui apresentados devido à grande diferença tanto dos artrópodes avaliados quanto nos protocolos utilizados nos testes.

Tabela 1. Mortalidade corrigida (Abbott) e confirmada (n = 50), concentração letal média (CL<sub>50</sub>) (n = 50) e tempo letal médio (TL<sub>50</sub>) (Probit) (n = 300) para *O. yothersi*, inoculado com os isolados mais virulentos de *B. bassiana*.

Isolados	Mortalidade (%)		CL <sub>50</sub> (IC - 95%) <sup>1</sup> (x10 <sup>6</sup> conídios/ml)	TL <sub>50</sub> (IC - 95%) <sup>2</sup> (dias)
	Corrigida	Confirmada		
UEL02	88,9	76,0	7,2 (6,8-7,8)	3,5 (2,8-4,2)
UEL08	80,0	70,0	7,2 (6,7-7,7)	3,2 (2,4-3,8)
UEL10	91,1	88,0	6,2 (5,8-6,6)	2,6 (1,8-3,2)
UEL50	82,2	74,0	6,6 (6,1-7,0)	3,8 (3,0-4,4)
CG082	74,5	70,0	7,5 (7,0-8,1)	4,6 (3,8-5,4)
CG166	85,1	80,0	6,8 (6,3-7,3)	3,5 (2,8-4,2)
CG375	78,2	73,9	7,3 (6,8-7,8)	4,8 (4,1-5,7)
CG424	76,6	70,0	7,0 (6,6-7,5)	4,3 (3,5-5,0)
CG481	82,9	70,0	6,6 (6,2-7,0)	3,5 (2,7-4,1)

<sup>1</sup>Concentração letal média + intervalo de confiança; <sup>2</sup>Tempo letal médio + intervalo de confiança

A variação de virulência apresentada pelos isolados dos fungos entomopatogênicos sobre o ácaro *O. yothersi* constitui um indicativo da ocorrência natural de variabilidade genética. O uso de análises bioquímicas e marcadores moleculares no estudo dos fatores que afetam a variabilidade genética, tanto inter quanto intraespecífica, principalmente em relação à produção e atividade extracelular de enzimas hidrolíticas, foram discutidas por Bidochka & Khachatourians (1990), St. Leger & Cooper (1987) e St. Leger *et al.* (1991, 1992). Estes autores demonstraram que a expressão de variabilidade na virulência dos fungos entomopatogênicos está diretamente relacionada com a composição química da cutícula e os processos bioquímicos necessários para a formação do tubo germinativo e conseqüente colonização do hospedeiro.

Tamai (1997) trabalhou com seleção de fungos para o controle do ácaro *T. urticae*, utilizando a maioria dos isolados avaliados neste trabalho. Esse autor também obteve grande variabilidade na virulência dos fungos e ao final constatou que os isolados de *B. bassiana* demonstraram maior potencial para utilização no controle do ácaro. Desta forma, verifica-se que o fungo entomopatogênico *B. bassiana* apresenta melhor capacidade adaptativa em relação aos ácaros tetrânicos, que se deve, provavelmente, à habilidade que os conídios possuem em reconhecer e produzir enzimas para degradar a cutícula do hospedeiro. Todavia, é necessário implementar outros estudos para averiguar a eficiência, bem como definir estratégias de utilização dos isolados mais virulentos em condições de campo.

### Agradecimentos

À CAPES pelo suporte financeiro, ao CNPq pela concessão de Bolsa de Produtividade em Pesquisa e à Prof<sup>a</sup>. Dra. Inês Cristina B. Fonseca pelo auxílio na análise estatística.

### Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Ahrens, S. 2000.** Política, preservação e formas alternativas para o incremento da produtividade em ervas cultivadas e nativas a utilização econômica da erva-mate, o código florestal e o mercado, p.3-5. In H. Winge (coord.), Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 2 e Reunião Técnica da Erva-Mate, 3., 2000. Anais. Porto Alegre, UFRGS, 2000, 470p.
- Alves, L.F.A., D.L.Q. Santana, P.M.O.J. Neves & R.C. Oliveira. 2000.** Ácaros fitófagos da erva-mate: Situação atual e perspectivas de controle, p.39-42. In H. Winge (coord.), Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 2 e Reunião Técnica da Erva-Mate, 3., 2000. Anais. Porto Alegre: UFRGS. 470p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA-MATE. 1999.** Santa Cruz do Sul, Pallotti, 64p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA-MATE. 2000.** Santa Cruz do Sul, Pallotti, 80p.
- Bartkowski, J., M.O. Odindo & W.A. Otieno. 1988.** Some fungal pathogens of the cassava green spider mites *Mononychellus* spp. (Tetranychidae) in Kenya. *Insect Sci. Appl.* 9: 457-459.
- Bidochka, M.J. & G.G. Khachatourians. 1990.** Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J. Invert. Pathol.* 56: 362-370.
- Correia, A.C.B., S. Gravena. & E.O. Krebksy. 1992.** Primeira citação do fungo *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii* parasitando *Phyllocoptruta oleivora* (Ashm.) (Acari: Eriophyidae) no Brasil. *Rev. Laranja* 13: 553-558.
- De Coll, O.R. & E.D. Saini. 1992.** Insectos y acaros perjudiciales al cultivo de la yerba mate en la Republica Argentina. *Boletim*, 1. Montecarlo, INTA, 48p.

- 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.
- Iede, E.T. & D.C. Machado. 1989.** Pragas da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) e seu controle. EMBRAPA/CNPQ, Colombo, Boletim de Pesquisa Florestal 18/19, 66p.
- Oliveira, R.C, L.F.A. Alves & P.M.O.J. Neves. 2001.** Técnica para desenvolvimento de bioensaios com *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 68: 125-126.
- Oliveira, R.C, L.F.A. Alves & P.M.O.J. Neves. 2002.** Suscetibilidade de *Oligonychus yothersi* (Acari: Tetranychidae) ao fungo *Beauveria bassiana*. *Sci. Agric.* 59: 187-189.
- Peña, J.E., L.S. Osborne & R.E. Duncan. 1996.** Potential of fungi as biocontrol agents of *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae). *Entomophaga* 41: 27-36.
- Penteado, S.R.C. 1995.** Principais pragas da erva-mate e medidas alternativas para o seu controle. p.109-120. In H. Winger, A.G. Ferreira, J.E.A. Mariath & L.C. Tarasconi (orgs.). *Erva-mate: Biologia e cultura no Cone Sul*. Porto Alegre, ed. UFRGS, 470p.
- Penteado, S.R.C., E.T. Iede & M.S.P. Leite. 2000.** Pragas da erva-mate: Perspectivas de controle. p. 27-38. In H. Winge (coord.). *Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 2 e Reunião Técnica da Erva-Mate, 3., 2000*. Anais. Porto Alegre, Ed. dos Organizadores, 470p.
- Rücker, N.G.A. & J.Z. Mazuchowski. 1995.** Análise do agronegócio erva-mate. Curitiba, SEAB, 38p.
- Santana, D.L.Q., C.H.W. Flechtmann, J.M. Milanez, M.J.S. Medrado & S.H. Mosele. 1997.** Principais características de três espécies de ácaros em erva-mate, no Sul do Brasil. Colombo, EMBRAPA/CNPQ, Com. Téc. 17, 2p.
- SAS Institute. User's manual. 1998.** v. 7.0. Cary, NC, SAS Institute.
- St. Leger, R.J., B. May, L.L. Allee, D.C. Frank, R.C. Staples & D.W. Roberts. 1992.** Genetic differences in allozymes and in formation of infection structures among isolates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Invert. Pathol.* 60: 89-101.
- St. Leger, R.J., M. Goettel, D.W. Roberts & R.C. Staples. 1991.** Preparation events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. *J. Invert. Pathol.* 58: 168-179.
- St. Leger, R.J. & R.M. Cooper. 1987.** Production of cuticle-degrading enzymes by the *Metarhizium anisopliae* during infection of cuticles from *Calliphora vomitoria* and *Manduca sexta*. *J. Gen. Microbiol.* 133: 1371-1382.
- Tamai, M.A. 1997.** Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba 87p.
- Tamai, M.A., S.B. Alves & P.J. Neves. 1999.** Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ao ácaro *Tetranychus urticae* Koch. *Sci. Agric.* 56: 285-288.
- 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.
- Vieira Neto, A. & L.A. Chiaradia. 1999.** Amostragem de *Dichopelmus notus* Keifer (Acari: Eriophydeia) na cultura da erva-mate. *Pesq. Agrop. Gaúcha* 5: 357-361.
- Zoebisch, T.G., R. Ochoa, C. Vargas & A. Gamboa. 1992.** Identificación y potencial del hongo *Hirsutiella thompsonii* Fisher para el control de ácaros de importancia económica en América Central. *Man. Integr. Plagas* 23: 9-12.

Received 24/03/03. Accepted 18/04/04.