

PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.) Vuill. SOBRE *Diaphania nitidalis* (CRAMER) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) VISANDO AO SEU CONTROLE

José Romário Carvalho¹; Iana P. da S. Quadros¹; Karen P. Oliveira S. Salomão¹; João Paulo P. Paes¹; Raul da C. Borges Filho¹; Lorena C. Machado¹; Ingrid S. Kaiser¹, Vando R. Miossi²; Dirceu Pratisoli¹

¹ Núcleo de Desenvolvimento em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre, 29500-000, ES, Brasil.

jromario_carvalho@hotmail.com

² PPG em Entomologia Agrícola, Fitossanidade, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, 52171-900, PE, Brasil.

Resumo- Este trabalho teve como objetivo avaliar a performance de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre lagartas de 2^o e 3^o instares de *Diaphania nitidalis* (Cramer) (Lep.: Pyralidae). As lagartas foram imersas em solução contendo 10⁸ conídios/mL dos isolados CCAUFES/Bb-3, CCAUFES/Bb-15, CCAUFES/Bb-42, CCAUFES/Bb-210, ESALQ-447 e do Bioinseticida BOVERIL ORGANIC[®] (*B. bassiana* 10⁸ conídios/g). Para lagartas de 2^o instar o isolado CCAUFES/Bb-210 apresentou a maior percentagem de mortalidade (10 %) enquanto que o isolado ESALQ-447, considerado padrão em testes, apresentou apenas 3,9 %. Para lagartas de 3^o instar o isolado CCAUFES/Bb-210 apresentou valor de mortalidade igual a 14,6 % enquanto que o isolado CCAUFES/Bb-15 e o BOVERIL não proporcionaram mortalidades de *D. nitidalis*. Tanto em lagartas de 2^o e 3^o instares os resultados da mortalidade não foram muito expressivo, visto que a maior mortalidade não ultrapassou os 15 %, demonstrando assim que *B. bassiana* apresenta uma reduzida ação patogênica sobre lagartas de *D. nitidalis*.

Palavras-chave: Controle microbiano, Manejo Integrado de Pragas, Broca-das-cucurbitáceas, Fungos entomopatogênicos

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

As espécies da família das Cucurbitáceas são predominantemente cultivadas como hortícolas, pelos seus frutos, em diversas regiões do mundo. As principais culturas dessa família são melancias, pepinos, melões e abóboras que representam 20% da produção total de produtos olerícolas no mundo, assumindo uma proporção do total semelhante à das principais Solanáceas (excluída a batata) (ALMEIDA, 2002).

A broca-das-cucurbitáceas, *Diaphania* spp. (Lepidoptera: Pyralidae), é considerada praga-chave para estas plantas. Suas lagartas atacam as folhas, brotos novos, ramos e, principalmente, os frutos. Os brotos novos atacados secam e os ramos ficam com as folhas secas. Nos frutos abrem galerias e destroem a polpa, acarretando seu apodrecimento e inutilização (GALLO et al, 2002).

A prática mais comum para o controle desta praga é o uso de agroquímicos, principalmente os organofosforados. Mas é também recomendado o uso de inseticidas biológicos, como o *Bacillus thuringiensis* (GUIMARÃES et al, 2005).

De acordo com Alves (1998), pode-se afirmar que, para a maioria das pragas importantes, existe um patógeno capaz de regular a sua população, o que demonstra o grande potencial do controle microbiano. Desta forma, é de extrema importância o estudo com esses entomopatógenos, pois eles podem contribuir expressivamente para a redução do uso desses agroquímicos. Estudos com fungos entomopatogênicos dos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea* e *Verticillium* têm demonstrados resultados significativos no controle de várias espécies de insetos praga como, por exemplo, *Hypothenemus hampei* (NEVES, 2005), *Diatraea saccharalis* (MARQUES et al., 2000) e *Anticarsia gemmatalis* (SUJII et al., 2002).

Diante do exposto, este trabalho teve o objetivo de avaliar a patogenicidade de isolados de *B. bassiana* sobre lagartas *D. nitidalis* alvejando o seu controle.

Metodologia

Para a execução deste trabalho foi utilizada a metodologia de Rossi (2002) adaptado à praga e às condições do setor de entomologia do Núcleo

de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), no Centro de Ciências Agrárias da Universidade federal do Espírito Santo (CCA-UFES), situado em Alegre.

Criação de *Diaphania nitidalis*. A criação de *D. nitidalis* foi estabelecida a partir de lagartas coletadas em plantações de abóbora no distrito de São Paulinho no município de Domingos Martins-E.S.. As lagartas foram transferidas para caixas plásticas de acrílico transparente (11,5 x 11,5 x 3,5 cm), que permitem a visualização do seu interior no momento das vistorias, forradas com papel de filtro para absorver os exsudatos provenientes do alimento e das fezes. Foram oferecidas fatias de frutos de abóbora até estas entrarem na fase de pupa. Os adultos recém-emergidos foram transferidos para gaiolas de tubos de PVC, medindo 20 cm de altura por 150 mm de diâmetro. A parede interna das gaiolas foi revestida com papel de filtro e na extremidade superior fechada com tecido tipo Voil. Os adultos foram alimentados com mel a 10% e periodicamente foi colocado na extremidade superior papel toalha umedecido com extrato de pepino para a oviposição. Este papel foi transferido para caixa acrílica transparente (11,5 x 11,5 x 3,5 cm) devidamente identificada com a data do dia. Após a eclosão as lagartas foram transferidas para folhas tenras de abóbora até atingirem o terceiro instar a partir do qual foram alimentadas de fatias de frutos de abóbora. A criação foi realizada em ambiente climatizado com temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Obtenção e produção dos fungos. Foram utilizados os isolados: CCAUFES/Bb-15, CCAUFES/Bb-42, CCAUFES/Bb-210 e CCAUFES/Bb-3 de *B. bassiana* obtidos da coleção de entomopatógenos do NUDEMAFI. O isolado ESALQ-447 de *B. bassiana* foi cedido pelo Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Inicialmente esses isolados foram repicados para placa de Petri (10 x 1,5 cm) contendo meio de cultura completo do tipo BDA (batata, dextrose e ágar) e após sete dias foram novamente repicados para outras placas com meio de cultura completo, permanecendo nesta condição durante 12 dias. O formulado comercial utilizado foi o Boveril® cedido pela empresa Itaforte Bioprodutos LTDA. Em todas as etapas da pesquisa a viabilidade dos conídios foi aferida pelo método de germinação, inoculando-se uma suspensão de cada isolado em três placas de Petri contendo meio de cultura completo, sendo as placas mantidas por 24h em câmara climatizada a 27 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h.

Teste de Patogenicidade. Para o preparo da suspensão, as placas de Petri contendo os patógenos foram raspadas com o auxílio de uma espátula de borracha esterilizada e os conídios do fungo transferido para os tubos de vidro contendo 10 mL de água destilada mais espalhante adesivo Tween 80® a 0,05%. Após a realização de três diluições em série, os conídios foram contados em câmara de Neubauer e a seguir foi preparada uma suspensão na concentração de 1×10^8 conídios/mL em bequer de 500 mL que foi utilizada na pulverização das lagartas. O tratamento testemunha consistiu da aplicação de água destilada mais espalhante adesivo Tween 80® a 0,05%.

Utilizaram-se lagartas de 2º e 3º instar que foram pulverizadas com a suspensão descrita anteriormente com o auxílio de Torre de Potter, regulada com pressão 15 lb/pol², sendo utilizado um volume de 6 mL de suspensão de cada um dos isolados/formulado.

Após a pulverização, os tratamentos foram colocados sobre papel filtro para retirada do excesso do solvente e posteriormente acondicionados em placas tipo Gerbox (6,5 x 2,5 cm) contendo em seu interior papel filtro. Como alimento foi utilizado discos de 6cm de diâmetro de folhas de abóbora que foram trocados quando necessário. Em cada Gerbox foram inoculadas 10 lagartas de 2º ou 3º instar e colocados em badeiras plásticas com um chumaço de algodão umedecido. Estes foram acondicionadas em câmaras climatizadas, com 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase 12 h.

As avaliações foram realizadas diariamente após a inoculação até o 12º dia, verificando-se a quantidade de insetos mortos (mortalidade). Após a avaliação, estes foram colocados em câmara úmida durante três dias para confirmação da mortalidade pelo fungo (mortalidade confirmada).

O cálculo da porcentagem de mortalidade corrigida em função da testemunha foi realizada pela fórmula de Abbott (1925).

Análise estatística. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 10 repetições para cada instar das lagartas de *D. nitidalis*. Os dados foram submetidos a análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados

Os isolados e o Formulado comercial *B. bassiana* apresentaram germinação acima de 80% em placa contendo meio de cultura BDA, demonstrando desta forma, sua elevada capacidade germinativa.

Não se verificou diferença significativa entre os diferentes tratamentos à base de fungos entomopatogênicos quanto a mortalidade corrigida das lagartas de 2º instar *D. nitidalis* ($F=0,827$; $G.L.=5,54$; $p=0,536$) (Figura 1). Para lagartas de 3º instar de *D. nitidalis*, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos ($F=3,037$; $G.L.=5,54$; $p=0,017$) (Figura 2).

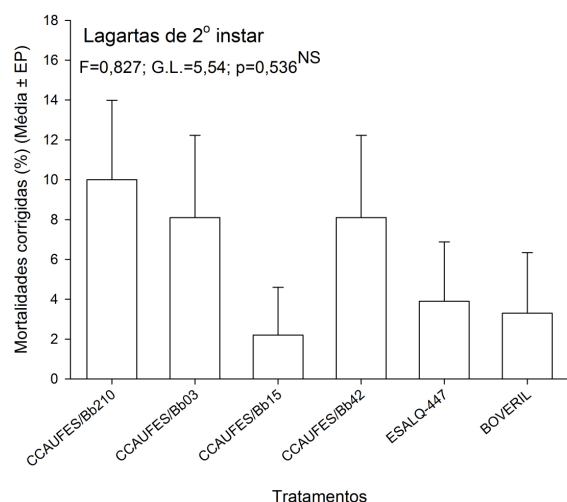


Figura 1 – Mortalidades corrigidas de lagartas de 2º instar de *Diaphania nitidalis* (C.) (Lep.: Pyralidae) tratadas com diferentes tratamentos à base do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. (Temperatura: $25 \pm 1^\circ \text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 horas).

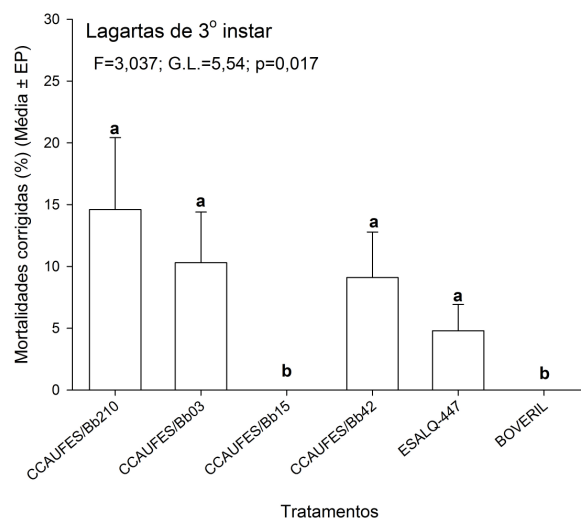


Figura 2 – Mortalidades corrigidas de lagartas de 3º instar de *Diaphania nitidalis* (C.) (Lep.: Pyralidae) tratadas com diferentes tratamentos à base do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* [Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)]. (Temperatura: $25 \pm 1^\circ \text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 horas).

Para lagartas de 2º instar, a mortalidade variou entre 3,3 a 10,0 % (Figura 1), enquanto para lagartas de 3º instar essa variação foi de 0,0 a 14,6 % (Figura 2). O isolado CCAUFES/Bb-210 foi o que apresentou o melhor resultado tanto para lagartas de 2º (10,0%) quanto para lagartas de 3º instar (14,6%). O isolado CCAUFES/Bb-15 foi o que apresentou o pior resultado para lagartas de 2º instar (2,2%), sendo que para lagartas de 3º instar não causou mortalidade das lagartas. O formulado BOVERIL não apresentou uma mortalidade elevada para lagartas de 2º instar (3,3%) e não proporcionou mortalidade de lagartas de 3º instar de *D. nitidalis*.

Discussão

O fungo *B. bassiana* não demonstrou uma elevada patogenicidade em lagartas de *D. nitidalis*. Oliveira (2007) por sua vez, avaliando a patogenicidade de *B. bassiana* sobre lagartas de *Diaphania hyalinata* (Cramer) (Lepidoptera: Pyralidae) encontrou mortalidade corrigida igual a 69,27% em lagartas de 2º instar para o isolado CCAE-7, que na nova listagem corresponde ao isolado CCAUFES/Bb-3. Este por sua vez, apresentou uma mortalidade de 8,1 e 10,3% para lagartas de 2º e 3º instares de *D. nitidalis*, respectivamente (Figuras 1 e 2).

Segundo De La Rosa et al. (2000), lagartas em estádios iniciais de desenvolvimento apresentam uma maior susceptibilidade a fungos entomopatogênicos devido à reduzida espessura da cutícula e a composição bioquímica da superfície do inseto, facilitando deste modo a penetração e a colonização do hospedeiro. No entanto, Alves (1998) afirma que a virulência de um determinado patógeno pode apresentar reduzida ou elevada em função do hospedeiro. Desta maneira, um isolado de um fungo pode ser letal para um inseto e inofensivo para outro.

Analisando as condições dos hospedeiros verifica-se uma diferença quanto ao hábito de alimentação das espécies *D. nitidalis* e *D. hyalinata*. *D. nitidalis* apresenta o hábito de se alimentar da polpa do fruto, local cuja umidade é elevada, enquanto que *D. hyalinata* apresenta um hábito de alimentação das folhas e da casca do fruto, ou seja, locais cuja umidade em torno de sua cutícula é baixa (Gallo et al., 2002). Desta maneira, a cutícula de *D. nitidalis* pode apresentar uma constituição bioquímica que a possibilite uma reduzida troca de líquidos por intermédio de sua superfície, favorecendo sua sobrevivência no interior dos frutos. Com isso, a penetração do fungo ficaria dificultada.

Conclusão

Diante do exposto, pode-se concluir que a utilização de *B. bassiana* como método de controle alternativo de *D. nitidalis* não é viável até o momento devido à baixa mortalidade encontrada. Contudo, é de vital importância pesquisas buscando encontrar raças do fungo que apresentem uma virulência mais elevada para o inseto, visto que este patógeno apresenta a capacidade de infectá-lo.

Referências

- ALMEIDA, D. P. F. Cucurbitáceas Hortícolas. Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, 2002. Disponível em: dalmeida.com/hortnet/apontamentos/Cucurbitacea_s.pdf. Acesso em: 23 jan. 2008.
- ALVES, S. B. et al. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: __. Controle Microbiano de Insetos. 2ª ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 1, p. 21-34.
- DE LA ROSA, W. et al. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, p. 1409-1414, 2000.
- GALLO, D. et al. Pragas das plantas e seu controle. In. Entomologia Agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002. cap. 12, p. 727-728.
- GUIMARÃES, J. A. et al. Recomendações para o manejo das principais pragas do meloeiro na região do semi-árido nordestino. Circular Técnica, 24. Fortaleza: Embrapa 2005.
- MARQUES, E. J.; ALVES, S. B.; MARQUES, M. R. Virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) Após Armazenamento de Conídios em Baixa Temperatura. An. Soc. Entomol. Brasil, 2000 v.29, n. 2, p. 303–307.
- NEVES, Pedro M. O. J. and HIROSE, Edson. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Neotrop. Entomol., 2005. v. 34, n.1, p.77-82.
- OLIVEIRA, R. G. dos S. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em lagartas da broca –das – cucurbitáceas *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae). 2007. 46 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, CCAUFES, Alegre. 2007.
- ROSSI, L. S.; Seleção de fungos entomopatogênicos e infecção de *Hirsutella* sp. em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939). il. ROSSI, L.S.; Dissertação (Mestrado). ESALQ, Piracicaba, 2002. 92p.
- SUJII, E. R.; TIGANOE, M. S.; GOMES, D. S. Simulação do impacto do fungo *Nomuraea rileyi* em populações da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. Pesq. agropec. bras., Brasília, 2002. v. 37, n. 11, p. 1551-1558.