

EFEITO DO ÓLEO MINERAL SOBRE O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO
Beauveria bassiana (BALLS) VUILL.¹

Antonio Batista Filho²
Luís Garrigós Leite²
Adalton Raga²
Mário Eidi Sato²
Marcelo Nogueira Rossi²

INTRODUÇÃO

No Brasil, a exemplo de outros países, os fungos dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* são os agentes entomopatogênicos mais estudados e utilizados, devido ao amplo espectro de ação e facilidade de produção em laboratório (MARCQUES, 1993). Diversos trabalhos têm evidenciado o potencial de *Beauveria bassiana* (Balls.) Vuill. como agente controlador de *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824), também conhecido por "moleque" ou "broca do rizoma" (MESQUITA et alii, 1981; BATISTA FILHO et alii, 1989; BUSOLI et alii, 1989; BATISTA FILHO et alii, 1991, 1992; PINTO et alii, 1993, REIS & SOUZA, 1993; BATISTA FILHO et alii, 1993; TAVARES et alii, 1994). Esta praga representa um dos principais problemas fitossanitários da cultura da banana, em todo o mundo. As galerias no rizoma e parte inferior do pseudocaule, ocasionados pela coleobroca, levam as plantas a franco declínio e posteriormente à morte (GALLO et alii, 1988). O comportamento de *B. bassiana* no controle do "moleque" vem sendo estudado há vários anos pelo Instituto Biológico, em condições de laboratório e em bananais da região do Vale do Ribeira-SP. Os níveis de redução populacional de *C. sordidus*, obtidos em condições de campo, chegaram a 61,2%, utilizando iscas tratadas com o fungo, na forma pastosa (BATISTA FILHO et alii, 1992). O uso de dife

¹ Trabalho apresentado na 19.^a Reunião Anual de Genética de Microorganismos, Serra Negra-SP, 06 a 09/03/94.

² Instituto Biológico, Caixa Postal 70, CEP 13001-970, Campinas-SP.

rentes compostos, visando à manutenção ou ao aumento da viabilidade e virulência dos agentes de controle biológico, tem sido bastante estudado nos últimos anos (LEITE et alii, 1992a, McCOY et alii, 1992; MOORE et alii, 1993; MARGUES, 1993). DAOUST et alii (1983) verificaram que as formulações em óleos minerais e vegetais reduziram a viabilidade dos conídios de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, após 2 meses de armazenagem a 19 e 26°C. PRIOR & JOLLANDS (1988) utilizaram *B. bassiana* formulado em óleo de coco e em água, para infectar adultos de *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae), na Nova Guiné. As LD₅₀ das formulações em óleo e água foram respectivamente de $1,18 \times 10^3$ e $4,29 \times 10^4$. Segundo PRIOR et alii (1990), as formulações de *Beauveria* baseadas em óleo mostram LD₅₀ mais baixas do que a formulação com água, provavelmente porque óleos são cutinofílicos e distribuem melhor o inóculo sobre a superfície do inseto. BATEMAN (1992a,b) mencionou que os fungos dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* têm parede celular lipofílica, apresentando maior facilidade de preparação em óleo, do que em suspensões convencionais em água. O autor concluiu que o uso de óleo associado a *Metarhizium* mostrava-se promissor para o controle de *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). Recentemente, COSTA et alii (1993) observaram que a susceptibilidade de ninfas de cigarras (Hemiptera: Cicadidae) do cafeeiro foi incrementada com a adição de óleo mineral agrícola ao fungo *M. anisopliae*.

O objetivo do presente experimento foi observar o efeito do óleo mineral, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade de *B. bassiana*, assim como sobre a virulência do entomopatôgeno ao curculionídeo *C. sordidus*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório de Patologia de Insetos da Seção de Controle Biológico das Pragas, do Instituto Biológico, em Campinas-SP, no período de janeiro a fevereiro de 1994. A cepa de *B. bassiana* utilizada nos testes foi a CB-66, isolada da broca-do-café *Hypothenemus*

hampei (Ferrari, 1867) (BATISTA FILHO et alii, 1989). O entomopatôgeno foi preparado na forma de pasta (arroz auto clavado + fungo + água), conforme descrito por LEITE et alii (1992b). A esta pasta misturou-se óleo mineral (Oppa CE), em duas concentrações. Realizaram-se os seguintes experimentos.

Experimento 1 - Efeito de óleo mineral sobre a produção e germinação de esporos de *B. bassiana*

Constou de 3 tratamentos e 6 repetições: CB-66 (padrão); CB-66 + óleo a 3%; e CB-66 + óleo a 5%. Cada tratamento foi formado por 6 placas de petri (repetições), contendo uma camada de ágar no seu interior. Em cada placa, adicionaram-se 10 ml de pasta fúngica na superfície do ágar. O material assim preparado foi mantido em câmara climatizada (B.O.D.) a 28°C e 14 horas de fotofase, até o aparecimento da esporulação (7 dias). Após esse período, o conteúdo da placa foi diluído em 40 ml de água destilada, realizando-se a agitação deste conteúdo com micro-mixer por 1 minuto e 20 segundos. Em seguida, a solução foi coada e diluída 100 vezes. Após a diluição, foram retiradas alíquotas para a contagem de esporos em câmara de Neubauer. Da mesma solução diluída, também foram retiradas 3 gotas, espalhadas com alça de Drigalsky, sobre placas de petri contendo B.D.A. O material foi transferido para B.O.D. e mantido por 15 horas a 28°C. Decorrido este período, fez-se a contagem de esporos, e se obteve a porcentagem de germinação. A partir da solução diluída, mencionada anteriormente, também foram retiradas pequenas alíquotas, para contagem do número de esporos em câmara de Neubauer.

Experimento 2 - Efeito do óleo mineral sobre a virulência de *B. bassiana*

Os adultos da broca da bananeira utilizados no teste foram coletados no município de Miracatu-SP. O ensaio consistiu de 4 tratamentos e 4 repetições: Testemunha (água); CB-66 (somente fungo); CB-66 + óleo a 3%; e CB-66 + óleo a 5%. Nos tratamentos com CB-66, realizou-se a padronização do número de esporos, por volume de suspensão, antes da

condução dos testes de patogenicidade. Tomando-se como base os resultados da contagem de esporos, realizada no teste anterior, foi possível padronização das suspensões com CB-66 e CB-66 óleo, nas duas concentrações. A partir do material original (pasta fúngica + óleo), obteve-se uma concentração padrão de $1,7 \times 10^8$ esporos/ml. Pedacos de pseudocaulé de bananeira foram introduzidos nas suspensões, por um período de 30 segundos. Os pedacos de pseudocaulé foram individualmente mantidos em cubas de vidro, contendo 10 adultos da broca. Estas cubas foram fechadas, nas partes superior e inferior, por placas de petri. Em cada tratamento foram utilizados 40 insetos. Aos 15 dias após a aplicação, foi avaliado o número de insetos vivos e mortos, nos diferentes tratamentos.

Os experimentos, inteiramente casualizados, tiveram seus dados, transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, submetidos a análise da variância, com aplicação do teste F e uso do teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1 - O óleo mineral, quando associado ao fungo *B. bassiana*, afetou significativamente a viabilidade dos esporos do fungo. O CB-66 testado isoladamente apresentou 87,6% de esporos viáveis, decrescendo para 72,5 e 65,1%, na presença do óleo a 3 e 5%, respectivamente (**TABELA 1**). Também foi observada diferença significativa na produção de esporos, quando foi utilizado *B. bassiana* em mistura com óleo mineral a 5%. A concentração observada para o CB-66 sem óleo foi de $2,3 \times 10^8$ esporos/ml, enquanto que, em mistura com óleo a 5%, a concentração foi reduzida para $1,7 \times 10^8$ esporos/ml.

Experimento 2 - Embora tenha ocorrido efeito negativo do óleo mineral sobre a produção e germinação dos esporos de *B. bassiana*, a associação do fungo com óleo mostrou-se favorável, quando foi analisado o efeito da mistura sobre a virulência do entomopatôgeno (**TABELA 2**). O óleo mineral aumentou significativamente a eficiência de *B. bassiana* na

mortalidade de *C. sordidus*. A mortalidade para o tratamento com CB-66 + óleo a 5% foi de 85,0%, enquanto que o fungo testado isoladamente apresentou um índice de apenas 27,5%.

TABELA 1. Concentração e poder germinativo de esporos de *Beauveria bassiana* (Balls.) Vuill. (cepa CB-66) em associação com óleo mineral. Campinas - SP, 1994.

Tratamentos	Concentração ($\times 10^8$ esporos/mL)	Germinação (%)
CB-66	2,3 a	87,6 a
CB-66 + 3% óleo	1,9 ab	72,5 b
CB-66 + 5% óleo	1,7 b	65,1 c
CV	6,81%	4,54%

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Estes resultados concordam com BATISTA FILHO et alii (1993), que obtiveram reduções acima de 77,5% para *C. sordidus* utilizando *B. bassiana* em mistura com óleo mineral a 5%, além disso, a adição do óleo, nas formulações CE (concentrado emulsionável) e EC (emulsão concentrada), aumentou significativamente a eficácia de *B. bassiana*. Foi observado que 93,5% dos insetos mortos, encontrados nos tratamentos com óleo mineral, apresentaram crescimento micelial de *B. bassiana*, confirmando que o aumento na mortalidade realmente foi devido à ação do entomopatôgeno. No tratamento com apenas *B. bassiana*, foi constatada a presença do fungo em 81,8% dos insetos mortos. O aumento do nível de mortalidade, induzido pela incorporação do óleo mineral na pasta fúngica, pode ter sido influenciado pela maior aderência e distribuição do fungo nos insetos, como

foi mencionado por PRIOR et alii (1990).

TABELA 2. Número médio de adultos vivos por parcela e porcentagem de mortalidade de *Cosmopolites sordidus* Germar tratados com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (cepa CB-66), em mistura com óleo mineral. Campinas-SP, 1994.

Tratamentos	Número de adultos vivos	Mortalidade
Testemunha	9,5 a	5,0%
CB-66	7,3 ab	27,5%
CB-66 + 3% óleo	3,0 bc	70,0%
CB-66 + 5% óleo	1,5 c	85,0%
CV	20,65%	

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÃO

O óleo mineral a 5%, quando em associação com *B. bassiana*, reduz significativamente a produção e a germinação de conídios do entomopatôgeno. No entanto, esta associação induz aumento significativo na eficiência do fungo no controle de *C. sordidus*.

RESUMO

O presente trabalho foi realizado em Campinas, na Seção de Controle Biológico das Pragas, do Instituto Biológico, com o objetivo de observar o efeito da adição do óleo mineral ao fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., sobre a viabilidade do entomopatôgeno, assim como sobre a mortalidade do moleque-da-bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824, em condições de laboratório. Foram utilizados

os seguintes tratamentos: *B. bassiana* (cepa CB-66, somente fungo); *B. bassiana* + óleo mineral a 3%; e *B. bassiana* + óleo mineral a 5%, além da Testemunha, no teste de virulência. A utilização de óleo mineral a 5% reduziu significativamente a produção e a germinação dos esporos do fungo. Por outro lado, esta associação induziu aumento significativo na eficiência do entomopatôgeno na mortalidade de *C. sordidus*. Apresentou níveis de mortalidade de 85,0%, para o CB-66 + óleo a 5% e de 27,5%, para o fungo testado isoladamente.

Palavras-chave: *Beauveria bassiana*, formulação, controle biológico, *Cosmopolites sordidus*

SUMMARY

EFFECT OF MINERAL OIL ON THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

A laboratory study was carried out in Campinas, São Paulo State, Brazil, in the Section of Biological Control of Pests/Biological Institute. The objective was to observe the effects of mineral oil in association with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on the viability of the fungus as well as on the mortality of *Cosmopolites sordidus* Geïmar. The treatments were: *B. bassiana* + mineral oil at 5%, and a control for test of virulence. Mineral oil at 5% reduced significantly the production and germination of *B. bassiana* conidia. The mixture induced a significant increase on fungus efficacy: 85.0% for *B. bassiana* + oil at 5% and 27.5% for only fungus.

Key words: *Beauveria bassiana*, formulation, biological control, *Cosmopolites sordidus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATEMAN, R., 1992a. Controlled Droplet Application of Myco-Insecticide: An Environmental Friendly Way to Control Locusts. *Antenna*, 16(1): 6-13.

- BATEMAN, R., 1992b. Preparation, Atomisation and Activity of Oil-and-Water-Based Deuteromycete Conidial Formulations. In: ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 25., Heidelberg. **Proceedings**. p.266.
- BATISTA FILHO, A. et alii, 1989. Virulência de Diferentes Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2., São Paulo. **Resumos. Arquivos do Instituto Biológico**, 56 (supl.): 46.
- BATISTA FILHO, A. et alii, 1991. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no Controle do "Moleque" da Bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, 13: 35-40.
- BATISTA FILHO, A. et alii, 1992. Pesquisas sobre o Controle Biológico do "Moleque" da Bananeira, *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824. In: CRUZ, B.P.B.; A. BATISTA FILHO & L.G. LEITE. **II Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas**. Campinas, Fundação Cargill. p. 93-99.
- BATISTA FILHO, A. et alii, 1993. Associação de *Beauveria bassiana* com Óleo Mineral para o Controle de *Cosmopolites sordidus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., Piracicaba-SP. **Resumos**. p.316.
- BUSOLI, A.C.; O.A. FERNANDES & O. TAIRA, 1989. Controle da Broca da Bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera, Curculionidae) Através dos Fungos Entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Hyphomycetes). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 18 (Supl.): 33-41.
- COSTA, V.A. et alii, 1993. Avaliação da Susceptibilidade de Ninfas de Cigarras do Cafeeiro (Hemiptera: Cicadidae) ao Fungo *Metarhizium anisopliae*. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6., São Paulo-SP. **Resumos**. p.61.
- DAOUST, R.A.; M.G. WARD & D.W. ROBERTS, 1983. Effect of Formulation on the Viability of *Metarhizium anisopliae* Conidia. **Journal of Invertebrate Pathology**, 41: 151-160.

- GALLO, D. et alii, 1988. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres Ltda. 649p.
- LEITE, L.G. et alii, 1992a. Controle de Adultos do Gorgulho Aquático do Arroz, pela Aplicação da Mistura do Fungo *Beauveria bassiana* com Óleo de Soja, em Campos Irrigados. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 21 (1): 83-94.
- LEITE, L.G. et alii, 1992b. Produção de Fungos Entomopatogênicos para o Controle Biológico de Pragas. In: CRUZ, B.P.B.; A. BATISTA FILHO & L.G. LEITE. **II Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas**. Campinas, Fundação Cargill. p.79-92.
- MARQUES, E.J., 1993. Efeitos de Formulações na preservação de *Beauveria bassiana*(Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae*(Metsch.) Sorokin sob Diferentes Condições de Armazenamento. Piracicaba. 146p. (Doutorado - ESALQ/USP).
- McCOY, C.W. et alii, 1992. Performance of Comercial Formulation of *Beauveria bassiana* for the Microbial Control of Neonatal Larvae of Citrus Root Weevils. In: ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 25., Heidelberg. **Proceedings**. p. 286.
- MESQUITA, A.L.M. et alii, 1981. Controle Biológico da Broca da Bananeira com Fungos Entomogênicos. In: RELATÓRIO TÉCNICO ANUAL. CNPMF/EMBRAPA, Cruz das Almas-BA. p.209.
- MOORE, D. et alii, 1993. Long Term Storage of *Metarhizium flavoviride* Formulated in Oils for the Locust and Grasshoppers. In: ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 26., Asheville. **Proceedings**. p. 59
- PINTO, G.C.; J.B. TORRES & P.R. REIS, 1993. Controle Biológico da Broca-da-Bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae) com o Uso do Fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., Piracicaba. **Resumos**. p. 346.
- PRIOR, C. & P. JOLLANDS, 1988. Infectivity of Oil and Water Formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the Coccoa Weevil Pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). **J. Invertebr. Pathol.**, 52(1): 66-72.

- PRIOR, C. **et alii**, 1990. Mycopesticides for Locust and Grasshopper Control. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM IN INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5.. ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 23., Adelaide. **Proceedings and Abstracts.** p. 491.
- REIS, P.R. & J.C. de SOUZA, 1993. Atratividade de Dois Tipos de Isca sobre Adultos de Broca-da-Bananeira e Influência no Controle Biológico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., Piracicaba. **Resumos.** p.32.
- TAVARES, S.C.C. de H.; I.P. ASSUNÇÃO & F.N.P. HAJI, 1994. *Beauveria bassiana* no Controle do Moleque da Bananeira em Pernambuco. II - Comportamento na Região Semi-Árida. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 4., Gramado. **Anais.** p. 22.