

Revista de Agricultura

DIRETORES

Prof. Dr. F. Pimentel-Gomes
Prof. Dr. Luiz Gonzaga E. Lordello
Prof. Dr. Evoneo Berti Filho
Prof^a Dr^a Marli de Bem Gomes

Vol. 73

Agosto/1998

Nº 2

PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.) E *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK SOBRE *Castnia* *icarus* (Cramer, 1775)

Ranyse B.Q. da Silva¹
Antônio F. de Souza Leão Veiga¹

INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro, *Ananas comosus* (L.) Merrill, é uma planta herbácea, monocotiledônea, da família Bromeliaceae. Seu fruto é típico das regiões tropicais e subtropicais, de grande demanda em todo o mundo, tanto pelo consumo **in natura** quanto industrializado.

¹ Área de Entomologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE.

O Brasil, que apresenta condições ideais de cultivo, ocupa o 4º lugar na produção mundial (FAO, 1992). Muitos são os problemas que têm contribuído para impedir a expansão da abacaxicultura no Brasil, especialmente no Nordeste, merecendo destaque a ocorrência de pragas e doenças.

Em Pernambuco, tem-se destacado como fator limitante ao cultivo do abacaxi a incidência acentuada da broca-do-talo ou broca gigante do abacaxizeiro, *Castnia icarus* (Cramer, 1775) (Lepidoptera: Castniidae), espécie pouco estudada, considerando-se que seu ataque chega a determinar a morte de plantas. Deve-se enfatizar a falta de maior conhecimento sobre esta praga em seu agroecossistema e não haver nenhuma recomendação de controle com garantias de eficiência.

Estudos de controle químico da *Castnia licus*, **broca gigante da cana**, foram feitos por VIVEIROS et al. (1989), que verificaram a baixa eficiência dos produtos utilizados. VILAS BOAS et al. (1983) observaram a patogenicidade do fungo *Beauveria bassiana* sobre lagartas de *C. licus*, encontrando, a partir do sexto dia, infecção de 60% das lagartas.

O presente trabalho teve como objetivo fornecer informações sobre a patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre lagartas de *C. icarus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados no Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da UFRPE, no período de 21 de novembro de 1994 a 14 de fevereiro de 1995 e tiveram as seguintes etapas:

Verificação da patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre lagartas de *Castnia icarus*

O trabalho foi realizado nas condições de laboratório, onde se registraram a temperatura e a umidade relativa medidas por um termo-

higrógrafo. Foram utilizadas lagartas de *C. icarus* em diferentes estágios de desenvolvimento e tamanho, coletadas em áreas infestada do município de Pombos – PE. O fungo *B. bassiana* isolado 447 foi proveniente do Laboratório de Patologia de Insetos / UFRPE, enquanto o *M. anisopliae* isolado 196 E, foi obtido da Empresa IPA, ambos cultivados em arroz autoclavado.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições, trinta parcelas ao todo. Os tratamentos foram os seguintes:

- T₁ – *B. bassiana* na concentração de 10⁸ conídios/mL;
- T₂ – *M. anisopliae* na concentração de 10⁸ conídios/mL;
- T₃ – Testemunha – água destilada esterilizada.

As suspensões dos fungos foram preparadas, pela adição do arroz que continha o fungo, em água destilada esterilizada (ADE) + espalhante adesivo Tween (1 gota/litro). As duas suspensões obtidas foram filtradas através de gaze esterilizada. Em seguida, determinou-se a concentração dos conídios de cada suspensão, com uma câmara de Neubauer. Para comprovação da viabilidade dos fungos, fez-se o plaqueamento das suspensões em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar), mantidas em BOD 26±1°C e fotofase de 12 horas. Após 16 horas de incubação, efetuou-se a contagem de 100 conídios por placa, com microscópio ótico. Os fungos foram aplicados sobre as lagartas (grupos de cinco, colocadas em placa de Petri), durante 30 segundos, com um pequeno pulverizador de 1 litro. A seguir, as lagartas foram introduzidas em pequenos segmentos de mudas de abacaxi (7,0 cm de comprimento), através dos espaços entre as bainhas foliares, cujas folhas foram cortadas perto da inserção com o talo, o que facilitou a manipulação do material. Os segmentos de mudas, antes da introdução das lagartas, foram passados em solução de hipoclorito de sódio a 1,5% e depois lavados com água destilada.

Cada segmento de muda, com uma lagarta, foi acondicionado em recipiente plástico de 11,4 × 10,0 × 8,5 cm, fechado em 80% de sua abertura com tampa plástica coberta com pano poroso, presa por

liga de borracha, para possibilitar a formação de umidade e impedir a saída da lagarta.

A avaliação e computação dos dados para análise foram feitas 12 dias após a inoculação, observando-se a infecção do fungo, mediante a mortalidade dos insetos e conidiogênese. Foram efetuadas trocas de alimento e removidas as lagartas mortas aos 4, 8, 10 e 12 dias. Estas foram colocadas em câmara úmida, em placas de Petri com papel filtro e um pequeno chumaço de algodão embebido de ADE, mantidas em BOD $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase para estimular a esporulação.

Bioensaio com lagartas de *Castnia icarus*

Com base nos resultados encontrados na fase anterior, foi realizado um bioensaio para avaliar o efeito dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre as lagartas de *C. icarus*, através da mortalidade acumulada. Foram utilizadas lagartas, obtidas de criação em laboratório, com 20 a 25 mm de comprimento, no seu segundo estágio de desenvolvimento.

O experimento, inteiramente casualizado, teve três tratamentos e trinta repetições, no total de noventa parcelas. Os isolados foram os mesmos utilizados para o item anterior, bem como a metodologia para o preparo e inoculação das suspensões com 10^8 conídios/mL. No entanto, após a inoculação, as lagartas foram introduzidas em segmentos de mudas com aproximadamente 4,0 cm de comprimento, acondicionados em pequenas caixas de acrílico transparente, com 8,0 cm de comprimento, 4,0 cm de largura e 3,0 cm de altura. Foram estas agrupadas por tratamento, colocadas em bandejas e mantidas durante todo o período do trabalho em BOD, regulada em temperatura de 26°C e fotofase de 12h. Observou-se a infecção do fungo mediante mortalidade e conidiogênese. Determinou-se o tempo letal (TL_{50}) através do método de Próbit, de acordo com HADDAD (1986). Lagartas mortas foram submetidas ao mesmo procedimento do item anterior. As avaliações foram realizadas, diariamente, após a inoculação, durante 15 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificação da patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre lagartas de *Castnia icarus*

Observou-se que *B. bassiana* causou mortalidade de 24% e *M. anisopliae*, de 54%, aos 12 dias após a inoculação (Tabela 1). No decorrer deste experimento, registrou-se temperatura média de 24,3°C e umidade relativa média de 75,12%.

De acordo com os dados (Tabelas 1 e 2) houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade. Os tratamentos com os fungos tiveram comportamento semelhante entre si, sendo que apenas *M. anisopliae* diferiu estatisticamente da testemunha, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 1. Mortalidade de lagartas de *Castnia icarus* causada por *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em condições de laboratório, 12 dias após a inoculação.

Tratamentos	Nº de lagartas Inoculadas	Nº de lagartas Mortas	Porcentagem de Mortalidade	Médias de Mortalidade
<i>M. anisopliae</i>	10	6	54%	0,536 a
<i>B. bassiana</i>	10	3	24%	0,244 ab
Testemunha	10	0	0%	0,000 b

CV = 24,5%

DMS 5% = 0,235

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, ao nível de 5%. Dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$.

Os sintomas de infecção nas lagartas começaram a ser observados quando elas diminuíram sua alimentação, passando a ter movimentos lentos, mudança na coloração e presença de pontos (manchas) escuros ao longo do corpo, 24 a 48 horas após a inoculação.

Depois da morte, apresentaram o corpo envolvido por conídios, ou seja, ocorreu conidiogênese (esporulação) de coloração branca para *B. bassiana* e verde para *M. anisopliae*.

Tabela 2. Análise de variância da mortalidade de lagartas de *Castnia icarus* submetidas aos tratamentos com os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, 12 dias após a inoculação. Dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F	Prob > F
Tratamentos	2	0,482305	0,2411527	5,40	0,0106
Resíduos	27	1,205775			
TOTAL	29	1,688080			

CV = 24,5%

Durante o trabalho, observaram-se reações anormais demonstradas pelas lagartas, decorrentes dos sintomas iniciais da doença. As que apresentavam uma ou mais manchas pretas, distribuídas pelo corpo, tornavam-se escurecidas, não evoluindo, portanto, para a esporulação; outras permaneciam vivas e, em certos casos, não conseguiam realizar a troca de pele, o que provocava sua morte.

Estes sintomas foram mencionados por SWEETMAN (1958) e ALVES (1986). O último autor denominou os sintomas iniciais de primários ou necróticos, do tipo holonecrótico, ou seja, sintomas causados pela penetração do fungo, que envolve processos físicos e químicos, com a elaboração de enzimas, que provocam a hidrólise e facilitam a penetração mecânica.

Através das observações constatou-se a patogenicidade dos fungos estudados e notou-se que a conidiogênese ocorreu, principalmente, nas lagartas de estágios iniciais, com 20 a 25 mm de comprimento. FENG et al. (1985) observaram, também, maior

suscetibilidade das lagartas de primeiro instar de *Ostrinia nubilalis* em relação ao fungo *B. bassiana*. Com base nestes resultados, realizou-se um segundo experimento.

Bioensaio com lagartas de *C. icarus*

Constatou-se mortalidade de 68% causada pelo *M. anisopliae*, com Tempo Letal (TL₅₀) de 5,84 dias, enquanto que *B. bassiana* provocou 54% de mortalidade, com TL₅₀ de 11,60 dias (Tabela 3). Verificou-se, portanto, a eficiência de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, sendo que o primeiro induziu maior mortalidade e teve maior agressividade, pois apresentou TL₅₀, quase duas vezes menor quando comparado ao de *B. bassiana*.

Tabela 3. Mortalidade e TL₅₀ de lagartas de *Castnia icarus* causadas por *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, 15 dias após a inoculação.

Tratamentos	Nº de lagartas Inoculadas	Nº de lagartas Mortas	TL ₅₀ (dias)	Médias de Mortalidade
<i>M. anisopliae</i>	30	68%	5,84	0,6809 a
<i>B. bassiana</i>	30	54%	11,60	0,5356 a
Testemunha	30	0%	---	0,0000 b

CV = 21,4%

DMS = 0,235

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, ao nível de 5%. Dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$.

Observa-se (Tabelas 3 e 4) que houve diferença significativa entre os tratamentos, pelo Teste F, ao nível de 1% de probabilidade. Os tratamentos com os fungos tiveram comportamento semelhante entre si, diferindo estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. No entanto, foi observada a superioridade do *M. anisopliae*, quanto a sua patogenicidade sobre *C. icarus* em relação a *B. bassiana*.

Tabela 4. Análise de variância da mortalidade de lagartas de *Castnia icarus* submetidas aos tratamentos com os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, 15 dias após a inoculação.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	Valor F	Prob > F
Tratamentos	2	2,4332	1,226615	30,48	0,00001
Resíduo	87	3,5012	0,04024		
TOTAL	89	5,9544			

CV = 21,4%

Os sintomas e sinais em lagartas de *C. icarus*, causados pela ação dos fungos, são os mesmos descritos no item anterior. neste experimento, registrou-se maior esporulação de *M. anisopliae* e *B. bassiana*. Observaram-se, também, lagartas com sintomas iniciais de infecção, com reações anormais, como no item anterior.

Não foram encontrados, na literatura, trabalhos sobre o efeito dos fungos em lagartas de *C. icarus*. Porém pesquisas já foram realizadas com *Castnia licus* em cana-de-açúcar. Sobre o assunto, VILAS BOAS et al. (1983) estudaram a patogenicidade do fungo *B. bassiana* em relação às lagartas de *C. licus* e verificaram que, a partir do 6º dia da inoculação, foram observadas lagartas com indício de parasitismo. Os resultados mostraram mortalidade de 60%. Com relação a *M. anisopliae*, não foi encontrada nenhuma referência.

CONCLUSÕES

1. Os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são patogênicos às lagartas de *C. icarus*, causando mortalidade de até 68,8% e 54%, respectivamente.
2. *M. anisopliae* apresenta nível maior de agressividade, com um TL₅₀ de 5,84 dias, comparado com *B. bassiana*, que obteve TL₅₀ de 11,60 dias.

RESUMO

O presente trabalho estudou a patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre lagartas de *Castnia icarus*, com determinação da mortalidade e TL₅₀. Os resultados mostraram que ambos os fungos, na concentração de 10⁸ conídios/ml de suspensão, foram patogênicos às lagartas de segundo instar de *C. icarus* nas quais o *B. bassiana* causou mortalidade de 54%, com TL₅₀ de 11,60 dias, enquanto que *M. anisopliae* apresentou 68% de mortalidade e TL₅₀ de 5,84 dias.

Palavras-chave: Abacaxi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Castnia icarus*, biocontrole.

PATHOGENICITY OF *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL AND *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK ON *Castnia icarus* (CRAMER, 1775) (LEPIDOPTERA: CASTNIIDAE)

SUMMARY

This paper deals with the pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on *Castnia icarus* larvae. The results have indicated that the fungi were pathogenic to 2nd instar larvae at concentration of 10⁸ conidia/mL. *B. bassiana* caused 54% of mortality with LT₅₀ = 11.60 days, while *M. anisopliae* showed 68% of mortality and LT₅₀ = 5.84 days.

Key words: Pineapple, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Castnia icarus*, biocontrol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B., 1986. **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo, Manole. 407p.
- FENG, Z.; R.I. CARRUTHERS; D.W. ROBERTS; D.S. ROBSON, 1985. Age-Specific. Dose-Mortality Effect of *Beauveria bassiana* (Deterony Cotina: Hyponicetes) on the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis* (Lep., Pyralidae). **Jour. Invertebrate Pathology**, **46**: 259-264.
- HADDAD, M.L., 1986. Análise de Próbitos. In: ALVES, S.B. (ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo, Manole. 407p.
- SWEETMAN, H.L., 1958. **Principles of Biological Control**. Iowa, W.C. Brown Company. 503p.
- VILAS BOAS, A.M. & S.M.A. RIBEIRO, 1983. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., Sobre as Lagartas de *Castnia licus* Drury (Lepidoptera, Castniidae) Broca Gigante da Cana-de-Açúcar. **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, **12**(2): 295-298.
- VIVEIROS, A.J.A.; A.F. MENDONÇA FILHO; B.H. CARVALHO; A.J. TOLEDO; L.C.G. COSTA; A.E. DÓRIA, 1989. Observações Preliminares e Controle Químico de *Castnia licus* Drury (Lep., Castniidae) Utilizando "Agulha Injetora". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12., Belo Horizonte, 1989. **Resumos**. Belo Horizonte, SEB. p.296.